



พิษของเดลตาเมทรินต่อการพัฒนาของเอ็มบริโอปลาหมอ (Danio rerio)  
Toxicity of Deltamethrin on Zebrafish (*Danio rerio*) Embryo Development

นิราณี บินนิมะ  
Niranee Binnima

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	พิษของเดลตาเมทรินต่อการพัฒนาของเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย ( <i>Danio rerio</i> )
ผู้เขียน	นางสาวนิรานิ บินนิมะ
สาขาวิชา	ชีววิทยาประยุกต์

---

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณชไม การถนัด)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมพร ประเสริฐสูงสกุล)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณชไม การถนัด)

..... กรรมการ

(ดร.นิรัตติศัย เพชรสุภา)

..... กรรมการ

(ดร. ภวิกา มหาสวัสดิ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น  
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. ธีรพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณชไม การถนัด)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....

(นางสาวนिरานี บินนิมะ)

นักศึกษา

Prince of Songkla University  
Pattani Campus

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ  
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวนิราณี บินนิมะ)

นักศึกษา

Prince of Songkla University  
Pattani Campus

ชื่อวิทยานิพนธ์	พิษของเดลตาเมทรินต่อการพัฒนาของเอ็มบริโอปลาหมอ (Danio rerio)
ผู้เขียน	นางสาวนิรานี บินนิมะ
สาขาวิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2557

### บทคัดย่อ

เดลตาเมทรินเป็นสารฆ่าแมลงในกลุ่มไพรีทรอยด์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายซึ่งมีความเป็นพิษสูงต่อปลาและสัตว์น้ำหลายชนิด ผลของเดลตาเมทรินต่อการพัฒนาของกระดูกในระยะเอ็มบริโอเป็นเรื่องที่ยังมีการศึกษาน้อย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินต่อปลาหมอและศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังต่อเอ็มบริโอที่ระยะเวลาและความเข้มข้นต่างกัน โดยทดลอง 2 ชั่วโมง พบว่าเดลตาเมทรินเกินมาตรฐานสำหรับงานวิเคราะห์และเกรดการค้า มีผลต่อการตายสะสมของเอ็มบริโอปลาหมอ ทำให้ LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง มีค่า 26.26 (22.78-31.50) และ 22.87 (20.00-26.81) ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ขณะที่ผลของเดลตาเมทรินต่อปลาหมอเพศผู้และเพศเมียมีค่า 6.4 (5.15-8.18) และ 7.40 (3.81-8.58) ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ผลความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังโดยให้เอ็มบริโอปลาหมอสัมผัสสารเป็นเวลา 7 วัน พบว่าที่ความเข้มข้นสูง (1/10 และ 1/100 ของค่า LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง) ทำให้กระดูกอ่อนเมคเคลมีความถี่ของการผิดปกติสูงขึ้นและขนาดของกะโหลกศีรษะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ในขณะที่การเกิดกระดูกแข็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) พบได้ที่ระดับความเข้มข้น 1/10 ของค่า LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง เท่านั้น อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบที่ความเข้มข้นต่ำสุด (1/1000 ของค่า LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง) ในระยะเวลา 30 วัน พบการเรียงตัวของกระดูกสันหลังผิดปกติอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้ การทดสอบโดยให้ปลาหมอตัวเต็มวัยเพศเมียสัมผัสสารเป็นเวลา 30 วัน พบว่าเอ็มบริโอที่ได้มีขนาดของกะโหลกศีรษะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) จะเห็นได้ว่า แต่ละเกณฑ์การตอบสนองมีประโยชน์ในการเลือกประยุกต์ใช้ต่างกัน เช่นการวัดขนาดของกะโหลกศีรษะตอบสนองการได้รับเดลตาเมทรินในช่วงความเข้มข้นกว้าง ในขณะที่ความผิดปกติของแนวกระดูกสันหลังตอบสนองได้ดีที่ความเข้มข้นต่ำ ผลจากการศึกษาพิษเฉียบพลันและกึ่งเรื้อรังบ่งชี้ว่าเดลตาเมทรินแสดงความเป็นพิษสูงต่อปลาหมอ ดังนั้น จึงควรเพิ่มความตระหนักถึงอันตรายของการใช้เดลตาเมทรินเพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ

<b>Thesis Title</b>	Toxicity of Deltamethrin on Zebrafish ( <i>Danio rerio</i> ) Embryo Development
<b>Author</b>	Miss Niranee Binnima
<b>Major Program</b>	Applied Biology
<b>Academic Year</b>	2014

### ABSTRACT

Deltamethrin, a widely use pyrethroid insecticide, is highly toxic to fish and aquatic organisms. The effects of deltamethrin on skeletal development in early life stage of zebrafish (*Danio rerio*) is limited. This study aimed to investigate the acute and sub-chronic toxicity of deltamethrin on zebrafish at various concentrations and durations with two replications. The calculated 96h-LC<sub>50</sub> of analytical reagent grade and commercial grade deltamethrin were 26.26 (22.78-31.50) and 22.87 (20.00-26.81) µg/L, respectively. Whereas the 96h-LC<sub>50</sub> on adult male and female zebrafish were 6.4 (5.15-8.18) and 7.40 (3.81-8.58) µg/L, respectively. Following acute toxicity assays, the sub-chronic toxicity tests were conducted. At high concentration (1/10 -1/100 of 96h-LC<sub>50</sub>), the exposed embryo showed cartilage deformation as well as a reduction of craniofacial skeletal development. Moreover, the number of ossified bone reduced at the highest concentration (1/10 of 96h-LC<sub>50</sub>). However, at the very low concentration (1/1,000 of 96h-LC<sub>50</sub>), it revealed that the vertebral deviation increased with increasing exposure time (30 days). In addition, the zebrafish embryo that maternally exposed to detamethrin showed the reduction of craniofacial skeleton development via mophometric analysis. The array of responses to deltamethrin indicated the beneficial utilization. For example, morphometric analysis demonstrated a wide range dose, whereas the vertebral deviation was as a good endpoint to lower dose. Both acute and sub-chronic bioassays suggested that deltamethrin was highly toxic to zebrafish embryo. The application of detamethrin should be under concerned and more awareness in order to avoid the risk of contamination to the environment.

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้ คงสำเร็จลงไม่ได้หากปราศจากความช่วยเหลือของบุคคลและองค์กรดังต่อไปนี้

ขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยและคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนทุนวิจัย จัดการอบรม ให้คำแนะนำที่จำเป็นเกี่ยวกับการดำเนินงานวิจัย

ขอบคุณแผนกชีววิทยาและบุคลากรในแผนกทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการจัดหาเครื่องมือ อุปกรณ์ และคำแนะนำในการใช้เครื่องมือในการทำงานวิจัย

ขอบคุณคณะกรรมการทุกท่านสำหรับคำแนะนำ ความเห็นต่องานวิจัยนี้

ขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. วรณชไม การณัด ที่ให้คำปรึกษา แรงบันดาลใจ กำลังใจ ตลอดจนคำแนะนำและทัศนคติที่ดี ซึ่งจำเป็นในการทำงานวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบคุณที่อดทนในการอบรมสั่งสอน

ขอบคุณเพื่อนร่วมวิจัย คุณมันทนา โต๊ะแบ สำหรับความช่วยเหลือในงานวิจัย การถกเถียงอันนำไปสู่การแก้ไขให้สมบูรณ์ขึ้น และการร่วมทุกข์ร่วมสุขตลอด 4 ปีที่ผ่านมา

ขอบคุณเพื่อนๆ ในหลักสูตรชีววิทยาประยุกต์ สำหรับกำลังใจในการเรียนและการทำวิจัย

ขอบคุณทุกคนในครอบครัวที่ให้ความรัก การสนับสนุน การสั่งสอนตักเตือน และการให้อภัย

และขอบคุณพระเจ้าที่ประทานสุขภาพและคุณภาพชีวิตที่ดี ซึ่งมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อความสำเร็จของงานวิจัยนี้และงานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยความประสงค์ของพระองค์

นิรานี บินนิมะ

## สารบัญ

บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.3 วัตถุประสงค์	13
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	14
2.1 การเตรียมสารเคมี	14
2.2 การเตรียมสัต์ว์ทดลอง	14
2.3 วิธีทดสอบพิษของเดลตาเมทรินต่อปลาม้าลาย	16
2.4 การดองไส้โดยไม่ใช่กรด	26
2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ	27
บทที่ 3 ผลการวิจัย	28
3.1 ผลทดสอบพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินปลาม้าลาย	28
3.2 ผลทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาม้าลาย	31
บทที่ 4 อภิปรายผล	44
4.1 พิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินปลาม้าลาย	44
4.2 พิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาม้าลาย	46
4.3 พิษของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาม้าลายโดยให้แม่สัมผัสสาร	48
4.4 การใช้ความผิดปกติของกระดูกบ่งชี้ความเป็นพิษของเดลตาเมทริน	50
4.5 ข้อเสนอแนะ	51
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษา	52
เอกสารอ้างอิง	53
ประวัติผู้เขียน	75

## รายการตาราง

ตารางที่ 1.1 พิษเฉียบพลันของเตลตามะทรินต่อปลา	5
ตารางที่ 1.2 ผลสำรวจปลาที่พบความผิดปกติของกระดูกสันหลังในแหล่งน้ำต่างๆ และสารปนเปื้อน	9
ตารางที่ 2 สัญลักษณ์ของวิธีการวัดขนาดกะโหลกศีรษะของเอ็มบริโอปลาหม้าลาย อายุ 7 วัน	22
ตารางที่ 3.1 ร้อยละของการเกิดความผิดปกติของปลาหม้าลายที่ได้รับเตลตามะทรินความ เข้มข้นต่างๆ โดยตรง	33
ตารางที่ 3.2 ร้อยละของเอ็มบริโอปลาหม้าลายอายุ 7 วัน ที่พบการเจริญผิดปกติของกระดูก อ่อน หลังได้รับเตลตามะทรินความเข้มข้นต่างๆ	34
ตารางที่ 3.3 ขนาดกะโหลกศีรษะของเอ็มบริโอปลาหม้าลายอายุ 7 วันหลังได้รับเตลตามะทริน โดยตรงที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน	35
ตารางที่ 3.4 ร้อยละของเอ็มบริโอปลาหม้าลายอายุ 7 วัน ที่พบการเกิดกระดูกแข็งขึ้นต่างๆ หลังได้รับเตลตามะทรินโดยตรง	37
ตารางที่ 3.5 ร้อยละของปลาหม้าลายอายุ 30 วัน ที่พบความผิดปกติแยกตามรูปแบบและ ตำแหน่งของความผิดปกติ	38
ตารางที่ 3.6 ร้อยละของการเกิดความผิดปกติของเอ็มบริโอปลาหม้าลายที่ให้แม่สัมผัสสาร	41
ตารางที่ 3.7 ขนาดกะโหลกศีรษะของเอ็มบริโอปลาหม้าลายอายุ 7 วัน ที่ให้แม่ปลาสัมผัสสาร	42
ตารางที่ 3.8 ร้อยละของเอ็มบริโอปลาหม้าลายอายุ 7 วัน ที่พบการเกิดกระดูกแข็งขึ้นต่างๆ โดยให้แม่ปลาสัมผัสสาร	43

## รายการภาพประกอบ

ภาพที่ 1.1	โครงสร้างของเตลตาเมทริน	2
ภาพที่ 1.2	การพัฒนาปกติของเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย	11
ภาพที่ 1.3	ภาพวาดของกระดูกอ่อนปลาฆ่าลายอายุ 5 วันหลังดองใส	12
ภาพที่ 2.1	ปลาฆ่าลายตัวเต็มวัยในตู้กระจก	15
ภาพที่ 2.2	การติดตั้งภาชนะเพื่อเก็บเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย	15
ภาพที่ 2.3	เอ็มบริโอทำยาระยะบลาสตูลา	16
ภาพที่ 2.4	เกณฑ์การตายของเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย	17
ภาพที่ 2.5	เอ็มบริโอปลาฆ่าลายที่ 72 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ	19
ภาพที่ 2.6	กระดูกอ่อนปลาฆ่าลายอายุ 7 วันหลังดองใส	20
ภาพที่ 2.7	วิธีการวัดขนาดกะโหลกศีรษะของเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย อายุ 7 วันหลังดองใส	21
ภาพที่ 2.8	ตำแหน่งของกระดูกแข็งปลาฆ่าลายอายุ 7 วันหลังดองใส	23
ภาพที่ 2.9	ตำแหน่งบนกระดูกสันหลัง	24
ภาพที่ 3.1	การตายสะสมของเอ็มบริโอปลาฆ่าลายเมื่อได้รับเตลตาเมทริน	28
ภาพที่ 3.2	การตายสะสมของปลาฆ่าลายเพศผู้เมื่อได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นต่างๆ	30
ภาพที่ 3.3	การตายสะสมของปลาฆ่าลายเพศเมียเมื่อได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นต่างๆ	30
ภาพที่ 3.4	เอ็มบริโอปลาฆ่าลายหลังได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน	34
ภาพที่ 3.5	การเกิดกระดูกแข็งของเอ็มบริโอปลาฆ่าลายที่ได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 7 วัน	36
ภาพที่ 3.6	ปลาฆ่าลายอายุ 30 วันหลังดองใส แสดงมุมมองด้านหลัง	39

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญ

เดลตาเมทริน (deltamethrin) เป็นสารฆ่าแมลงในกลุ่มไพรีทรอยด์ (pyrethroid) ที่ใช้อย่างแพร่หลาย ในประเทศไทยถูกใช้เพื่อควบคุมประชากรยุงโดยหน่วยงานท้องถิ่น เช่น เทศบาล และสำนักงานสาธารณสุข เดลตาเมทรินละลายได้ดีในไขมันจึงมีโอกาสมะสมในสิ่งมีชีวิตได้ (Alonso *et al.*, 2012; Corcellas *et al.*, 2015; Jabeen *et al.*, 2015; Muir *et al.*, 1994) เป็นที่ทราบกันดีว่า สารที่ละลายในไขมันหลายชนิดสามารถถ่ายทอดผ่านการสะสมในเซลล์สืบพันธุ์ (Bryan *et al.*, 2003; Hopkins *et al.*, 2006; Kadokami *et al.*, 2004; Miller and Amrhein, 1995; Nyholm *et al.*, 2008; Ostrach *et al.*, 2008; Peng *et al.*, 2010; Polder *et al.*, 2008; Rauschenberger *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2009) ดังนั้น สิ่งมีชีวิตที่ออกลูกเป็นไข่ เช่นปลา เอ็มบริโอมีโอกาสได้รับสารปนเปื้อนโดยตรงจากสิ่งแวดล้อม (El-Amrani *et al.*, 2012; El-Amrani *et al.*, 2013; Harrill *et al.*, 2005; Tu *et al.*, 2014) หรือได้รับผ่านแม่ (Heiden *et al.*, 2005; Hopkins *et al.*, 2006; Miller, 1993; Nyholm *et al.*, 2008; Russell *et al.*, 1999; Thomas and Janz, 2014; Weijs *et al.*, 2015) การสะสมของสารเหล่านี้ในไข่มีผลทำให้ อัตราการรอด ลดลง หรือเกิดความผิดปกติในรุ่นลูก (Heiden *et al.*, 2005; Hopkins *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2011) การได้รับเดลตาเมทรินโดยตรงส่งผลต่อการพัฒนาของเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย (DeMicco *et al.*, 2010) และในลูกปลาซึ่งเกิดจากแม่ปลาสัมผัสสารมีอัตราการรอดลดลง (Sharma and Ansari, 2010) แต่ยังไม่มียางานว่า ส่งผลให้เกิดการพัฒนาผิดปกติหรือไม่ กอรปกับมียางานว่าเดลตาเมทริน มีผลต่อการพัฒนาของกระดูกอ่อนในเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย (DeMicco *et al.*, 2010) งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นพิษของเดลตาเมทรินต่อการพัฒนาของปลาฆ่าลาย เพื่อส่งเสริมความตระหนัก และลดการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม เพื่อความอยู่รอดของปลาต่าง ๆ ในแหล่งน้ำธรรมชาติซึ่งเป็นแหล่งอาหาร และพ่อแม่พันธุ์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของเกษตรกรต่อไปในอนาคต

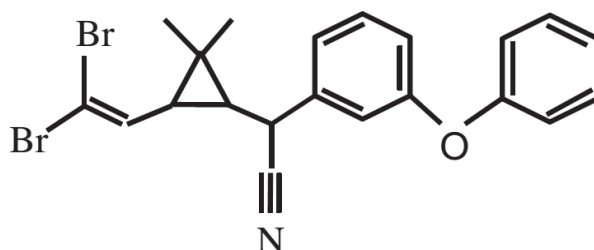
## 1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 1.2.1 เดลตาเมทริน

#### 1.2.1.1 ความสำคัญของเดลตาเมทริน

เดลตาเมทริน (ภาพที่ 1.1) เป็นสารฆ่าแมลงในกลุ่มไพรีทรอยด์ที่ถูกพัฒนาขึ้น ในปี ค.ศ. 1974 (Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999) อ้างตาม พระราชบัญญัติวัตถุอันตราย มาตรา 18 เดลตาเมทรินจัดเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 3 (วัตถุอันตรายที่การผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือการมีไว้ในครอบครองต้องได้รับใบอนุญาต) ในประเทศไทย มีรายงานการนำเข้าสารชนิดนี้ในปี พ.ศ. 2554 ถึง 190.5 ตัน (ฐานความรู้ด้านความปลอดภัยด้านสารเคมี, 2546) สารชนิดนี้ถูกใช้อย่างแพร่หลายในการควบคุมศัตรูพืช (Bianca *et al.*, 2003) และควบคุมการแพร่ระบาดของยุง (Thanispong *et al.*, 2008) เนื่องจากเป็นสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพ และเป็นพิษมากกว่าสารไพรีทรอยด์อื่น (DeMicco *et al.*, 2010) อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันแมลงในหลายประชากรมีการดื้อยาต่อเดลตาเมทริน ได้แก่ ประชากร *Anopheles culicifacies* ในอินเดีย (Mishra *et al.*, 2012) *An. Funestus* ในแอฟริกาใต้ และ *An. gambiae* ในคาเมรูน แอฟริกาใต้ เคนยา ไนจีเรีย และ เซเนกัล (Antonio-Nkondjio *et al.*, 2012; Bonizzoni *et al.*, 2012; Christian *et al.*, 2011; Namountougou *et al.*, 2012; Ndiath *et al.*, 2012; Oduola *et al.*, 2012) *Culex quinquefasciatus* ในเกาะเพมบา (Pemba) ประเทศแทนซาเนีย (Jones *et al.*, 2012) *Cu. pipiens* ในประเทศตูนิเซีย (Daaboub *et al.*, 2008) และประเทศซาอุดีอาระเบีย (Al-Sarar, 2010) และ *Rhipicephalus microplus* ในอินเดีย (Sharma *et al.*, 2012) ในประเทศไทย มีรายงานว่า *Aedes aegypti* และ *An. minimus* ดื้อยาต่อเดลตาเมทริน (Chareonviriyaphap *et al.*, 2003; Paeporn *et al.*, 2005) ผลของการดื้อยาต่อเดลตาเมทรินนี้ทำให้การใช้เดลตาเมทรินในพื้นที่ดังกล่าวไม่ได้ผลเท่าที่ควร ซึ่งอาจนำไปสู่การใช้เดลตาเมทรินความเข้มข้นสูงขึ้นได้

เดลตาเมทรินเป็นสารที่มีความคงตัวและทนต่อการย่อยสลาย สามารถจับกับอนุภาคในดินและตะกอนทำให้ตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้นาน (De Knecht and Van Herwijnen, 2008; Gan, 2006; Nath *et al.*, 2005) โดยเฉพาะบริเวณที่มีการใช้อย่างต่อเนื่องทั้งในเขตชุมชนและเขต



ภาพที่ 1.1 โครงสร้างของเดลตาเมทริน (Sakamoto *et al.*, 2012)

เกษตรกรรม (Kuivila *et al.*, 2012; Pakvilai *et al.*, 2012) เอลตาเมทรินอาจถูกชะล้างสู่แหล่งน้ำ (Elfman *et al.*, 2011; Feo *et al.*, 2010; Kumari *et al.*, 2008; Pakvilai *et al.*, 2012; Román *et al.*, 2012) โดยทั่วไปจะพบเอลตาเมทรินในช่วงความเข้มข้น 0.001- 0.632 ไมโครกรัม/ลิตร (Elfman *et al.*, 2011; Feo *et al.*, 2010; Ge *et al.*, 2010) แต่ในประเทศไทย มีรายงานพบเอลตาเมทรินในเขตเกษตรกรรมของ อ.ฝาง จ. เชียงใหม่ ความเข้มข้นเฉลี่ยในแหล่งน้ำและตะกอนสูงถึง 0.029 และ 0.066 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Pakvilai *et al.*, 2012) ตามลำดับ

### 1.2.1.2 ความปลอดภัยของเอลตาเมทรินในสิ่งแวดล้อม

เอลตาเมทรินมีความเป็นพิษต่ำต่อดอกและสัตว์เลื้อยลูกด้วยนม ตัวอย่างเช่น พิษเฉียบพลันโดยการกิน LD<sub>50</sub> มีค่า 31-5,000 ไมโครกรัม/กิโลกรัมในหนู 300 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ในสุนัข มากกว่า 10,000 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ในนกกกระทา และมากกว่า 4,640 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ในเป็ด (Extension Toxicology Network, 1995) ดังนั้นความตระหนักเรื่องความปลอดภัยของเอลตาเมทรินต่อสิ่งแวดล้อม ส่วนใหญ่จึงเกี่ยวกับความเป็นพิษต่อแมลงที่เป็นประโยชน์ ไล่เดือน สัตว์น้ำและปลาเอลตาเมทรินเป็นพิษต่อสัตว์ในดิน เช่น ไล่เดือนดิน โดยมีรายงานว่า

ไล่เดือน *Eisenia fetida* มีอัตราการตายสูงถึง 90% เมื่อได้รับเอลตาเมทรินในดิน 100–125 มิลลิกรัม/กิโลกรัม นาน 14 วัน (Song *et al.*, 2015) ค่า LC<sub>50</sub> ที่ 14 วัน เป็น 432.9 มิลลิกรัม/กิโลกรัม นอกจากนี้ การได้รับเอลตาเมทรินนาน 42 วัน ยังส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตอีกด้วย (Shi *et al.*, 2007)

เอลตาเมทรินเป็นพิษต่อแมลง โดยเฉพาะแมลงที่เป็นประโยชน์ เช่น ผึ้ง และแมลงเบียน (parasitoid) ซึ่งช่วยควบคุมประชากรแมลงศัตรูพืช ความเป็นพิษของเอลตาเมทรินต่อผึ้งงาน (*Apis mellifera ligustica*) มีค่า LC<sub>50</sub> 62.8 มิลลิกรัม/ลิตร (Dai *et al.*, 2010) ความเป็นพิษของเอลตาเมทรินต่อแตนเบียนไข่ (egg parasitoid) *Trissolcus grandis* มีค่า LC<sub>50</sub> ที่ 24 ชั่วโมง เป็น 3.9 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Saber *et al.*, 2005) และถึงแม้ได้รับเอลตาเมทรินเพียงความเข้มข้นต่ำๆ ก็อาจส่งผลให้การพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยช้าลง อายุขัยสั้นลง ความสามารถในการเรียนรู้ พฤติกรรมการกินและการหาอาหารลดลง และการตอบสนองต่อฟีโรโมนเพศเปลี่ยนไป (Dai *et al.*, 2010; Delpuech *et al.*, 2001; Desneux *et al.*, 2006; Meilin *et al.*, 2012; Ramirez-Romero *et al.*, 2005)

แมลงน้ำและครัสตาเซียนขนาดเล็กหลายชนิดไวต่อการได้รับเอลตาเมทริน (Adam *et al.*, 2010; Beketov, 2004; Shen *et al.*, 2012; Thomas *et al.*, 2008) ค่า LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมงของเอลตาเมทรินต่อลาร์วาแมลงชีปะขาว (*Cloeon dipterum*) มีค่าเพียง 0.01 ไมโครกรัม/ลิตรเท่านั้น (Beketov, 2004) ความเป็นพิษของเอลตาเมทรินในน้ำต่อหนอนแดง *Chironomus calipterus* มี

ค่า  $LC_{50}$  ที่ 48 ชั่วโมง 3.19 - 13.74 ไมโครกรัม/ลิตร (Toebae and Karntanut, 2014) และค่า  $LC_{50}$  ที่ 28 วันของเตลตาเมทรินในตะกอนต่อหนอนแดง (*C. riparius*) เป็น 11 ไมโครกรัม/กิโลกรัม (Åkerblom *et al.*, 2008) ค่า  $EC_{50}$  ที่ 48 ชั่วโมง ของเตลตาเมทรินต่อไร่น้ำ (*Ceriodaphnia dubia*) มีค่า 0.06 ไมโครกรัม/ลิตร (Shen *et al.*, 2012) ค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง ของเตลตาเมทรินต่อแอมฟิพอด (*Gammarus sp.*) มีค่า 33.2 และ 68.0 นาโนกรัม/ลิตร (Adam *et al.*, 2010) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า เตลตาเมทรินเป็นพิษอย่างมากต่อแมลงน้ำ และครัสเตเชียขนาดเล็ก

เตลตาเมทรินมีความเป็นพิษรุนแรงต่อปลา ทั้งพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรัง การได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นต่ำกว่า 1 ไมโครกรัม/ลิตร ทำให้ปลาหลายชนิดตายได้ นอกจากนี้ การได้รับเตลตาเมทรินอย่างต่อเนื่องยังสร้างความเสียหายต่อระบบเมตาบอลิซึม เนื้อเยื่อต่างๆ ความสามารถในการสืบพันธุ์ และมีผลต่อการพัฒนาของลูกปลาอีกด้วย

### 1.2.2.3 พิษเฉียบพลันของเตลตาเมทรินต่อปลา

ปลาหลายชนิดไวต่อการได้รับเตลตาเมทริน ตัวอย่างค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงของเตลตาเมทรินต่อปลาหลายชนิด อยู่ในช่วง 0.0019- 15.47 ไมโครกรัม/ลิตร (ตารางที่ 1) ปลาแต่ละชนิดมีความไวต่อเตลตาเมทรินต่างกัน จากค่า  $LC_{50}$  ที่รวบรวมไว้ในตารางที่ 1 อาจกล่าวได้ว่า ปลาหางนกยูง ปลากินยุง ปลาเทนท์ ปลากระตี่นางฟ้า ปลาสเปอร์ลิน ไวมากต่อเตลตาเมทริน ( $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง < 0.01 ไมโครกรัม/ลิตร) ปลาหม่อมมัลลาย ปลาเทนท์ ปลาสอด ไวต่อเตลตาเมทริน รองลงมา ( $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง < 0.1 ไมโครกรัม/ลิตร) ปลาแพลตตี้ ปลาสเปอร์ลิน ปลาเวลส์ ปลาเรนโบว์เทราต์ ไวปานกลางต่อเตลตาเมทริน ( $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง < 1 ไมโครกรัม/ลิตร) ในขณะที่ ปลาคาร์พ ปลาเทราต์อเมริกาใต้ ปลานิล ค่อนข้างทนต่อเตลตาเมทริน ( $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง > 1 ไมโครกรัม/ลิตร) นอกจากนี้ ความไวต่อการได้รับเตลตาเมทรินยังแตกต่างกันในแต่ละระยะของการเจริญเติบโต เช่น ปลาสเปอร์ลินและปลาเทนท์ระยะลาร์วา (larva) มีความไวต่อเตลตาเมทรินมากกว่าระยะลูกปลา (Vajargah *et al.*, 2013a; Vajargah *et al.*, 2013b) และค่า  $LC_{50}$  ที่ 48 ชั่วโมง ของปลาคาร์พในระยะเอ็มบริโอและลาร์วา (*Cyprinus carpio*) เป็น 0.213 และ 0.074 ไมโครกรัม/ลิตร บ่งชี้ว่าความไวต่อเตลตาเมทรินระยะเอ็มบริโอน้อยกว่าระยะลาร์วาถึง 3 เท่า (Köprücü and Aydın, 2004)

ปลาที่ได้รับเตลตาเมทรินในระดับที่เกิดพิษเฉียบพลันจะแสดงพฤติกรรมและอาการผิดปกติคือ มีการเคลื่อนไหวของแผ่นปิดเหงือกเพิ่มขึ้น สูญเสียสมดุลในการทรงตัว วายน้ำผิดปกติ วายน้ำทันทีทันใดตามด้วยการหยุดชะงัก วายน้ำวนเป็นวงกลม ซึ่งเป็นพฤติกรรมที่บ่งชี้ภาวะขาดอากาศหายใจ และความเสียหายของระบบประสาท (De Moraes *et al.*, 2013) การได้รับเตลตาเมทรินทำให้ปลาทาย โดยเตลตาเมทรินทำให้ช่องผ่านโซเดียมไอออน (voltage-gated  $Na^+$  channels) ของ

ตารางที่ 1.1 พิษเฉียบพลันของเดลตามาทรินต่อปลา (LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง)

สปีชีส์	LC <sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง (ไมโครกรัม/ลิตร)	อ้างอิง
ปลาหางนกยูง ( <i>Poecilia reticulata</i> )	0.0019	Stalin <i>et al.</i> , 2008
ปลากินยุง ( <i>Gambusia</i> sp.)	0.0019	Sadeghi and Imanpoor, 2013
ปลาเทนท์ ( <i>Tinca tinca</i> )*	0.005	Vajargah <i>et al.</i> , 2013b
ปลากระตี่นางฟ้า ( <i>Trichogaster trichopterus</i> )	0.006	Hedayati <i>et al.</i> , 2012
ปลาสเปอร์ลิน ( <i>Alburnoides bipunctatus</i> )*	0.006	Vajargah <i>et al.</i> , 2013a
ปลาหม่อม้าลาย ( <i>Cryptoheros nigrofasciatus</i> )	0.048	Sadeghi and Hedayati, 2014
ปลาเทนท์ ( <i>T. tinca</i> )**	0.07	Vajargah <i>et al.</i> , 2013b
ปลาสอด ( <i>Xiphophorus helleri</i> )	0.072	Khalili <i>et al.</i> , 2012
ปลาแพลตตี ( <i>X. maculatus</i> )	0.11	Sadeghi and Imanpoor, 2015
ปลาสเปอร์ลิน ( <i>A. bipunctatus</i> )**	0.27	Vajargah <i>et al.</i> , 2013a
ปลาเวลส์ ( <i>Silurus glanis</i> )**	0.686	Köprücü <i>et al.</i> , 2006
ปลาเรนโบว์เทราต์ ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	0.696	Ural and Sağlam, 2005
ปลาคาร์พ ( <i>Cyprinus carpio</i> )**	1.65	Çalta and Ural, 2004
ปลาเทราต์อเมริกาใต้ ( <i>Brycon amazonicus</i> )	2.6	De Moraes <i>et al.</i> , 2013
ปลานิล ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	15.47	Boateng <i>et al.</i> , 2006

\* ระยะลาร์วาหลังระยะเอ็มบริโอ เป็นระยะที่ไข่แดงถูกดูดซึมไปใช้หมดแล้ว ว่ายน้ำอิสระ แต่ยังไม่เปลี่ยนแปลงรูปร่างภายนอกจนเหมือนตัวเต็มวัย

\*\* ระยะลูกปลา ระยะที่ปลามีรูปร่างภายนอกจนเหมือนตัวเต็มวัย มีขนาดประมาณขนาดของนิ้วมือ

เซลล์เปิดนานขึ้น จึงทำให้เซลล์ประสาท กล้ามเนื้อ และกล้ามเนื้อหัวใจถูกกระตุ้นอย่างรุนแรง ทำให้เกิดอาการชัก ตามด้วยอาการอัมพาต และตายในที่สุด (Wang and Wang, 2003) นอกจากนี้ เกลตตามะทรินยังยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส (acetylcholinesterase) ทำให้เกิดการสะสมของอะเซทิลโคลีน (acetylcholine) ในเนื้อเยื่อซึ่งนำไปสู่การเกิดพฤติกรรมและระบบทางสรีระวิทยาของร่างกายผิดปกติ (David, 2014a) นอกจากนี้ เกลตตามะทรินยังเปลี่ยนแปลงความสามารถในการแทรกซึม (membrane permeability) ของสารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์โดยรบกวนการทำงานของเอ็นไซม์เอทีพีเอส (ATPases) ส่งผลให้ระบบแอคทีฟทรานสปอร์ต (active transport) ล้มเหลว และทำให้เกิดความล้มเหลวทางสรีระวิทยาทั่วทั้งร่างกายและนำไปสู่การตาย (David, 2014b; David *et al.*, 2014)

#### 1.2.1.4 พิษเรื้อรังของเกลตตามะทรินต่อปลา

การได้รับเกลตตามะทรินต่อเนื่องเป็นเวลานาน ส่งผลเรื้อรังต่อระบบเมแทบอลิซึมของไกลโคเจน โปรตีนและกรดนิวคลีอิก (Neeraja and Giridhar, 2014a; Neeraja and Giridhar, 2014b; Neeraja and Giridhar, 2014c; Sharma and Ansari, 2011) การได้รับเกลตตามะทรินเรื้อรังทำให้ปริมาณไกลโคเจนในตับลดลง (Devi and Gupta, 2014) ปริมาณกรดอะมิโนอิสระเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณกรดอะมิโนในรังไข่ ปริมาณดีเอ็นเอ (DNA) ในตับ รังไข่ และกล้ามเนื้อลดลง (Sharma and Ansari, 2011)

ปลาช่อน (*Channa punctatus*) ที่ได้รับเกลตตามะทรินเรื้อรังเกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเลือดคือ ทำให้ปริมาณฮีโมโกลบิน ปริมาณเม็ดเลือดแดงรวม ปริมาตรเซลล์รวมลดลง การตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น เวลาในการแข็งตัวช้าลง ทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาว ลิมโฟไซต์ นิวโทรฟิล และอีโอซิโนฟิลเพิ่มขึ้น ในขณะที่โมโนไซต์ และบาโซฟิลลดลง (Jayaprakash and Shettu, 2013)

การได้รับเกลตตามะทรินรบกวนการทำงานของระบบต่อต้านอนุมูลอิสระในปลา (Al-Ghanbousi *et al.*, 2012; Kaur *et al.*, 2011; Sayeed *et al.*, 2003) ในกระบวนการกำจัดเกลตตามะทรินจะเกิดอนุมูลอิสระเป็นจำนวนมาก ชักนำให้เกิดความเครียดจากอนุมูลอิสระซึ่งกระตุ้นโปรตีนฮีทช็อก-70 (heat shock protein-70) (Kaur *et al.*, 2011) และกระตุ้นกระบวนการสลายไขมัน (lipid peroxidation) (Kaur *et al.*, 2011; Sayeed *et al.*, 2003) ทำให้เอ็นไซม์ที่ต่อต้านอนุมูลอิสระ เช่น คตะเลส (catalase) กลูตาไธโอน เอส ทรานส์เฟอเรส (glutathione S-transferase) กลูตาไธโอน รีดักเตส (glutathione reductase) และ กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส

(glutathione peroxidase) ทำงานมากขึ้น (Al-Ghanbousi *et al.*, 2012; Costin *et al.*, 2007; Kaur *et al.*, 2011; Sayeed *et al.*, 2003)

การเกิดอนุมูลอิสระจำนวนมากในระหว่างที่เตลตาเมทรินถูกเมแทบอลิท์ สร้างความเสียหายให้เนื้อเยื่อต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เนื้อเยื่อของเหงือกปลา โดยทำให้รูปร่างเหงือกเปลี่ยนไป กล่าวคือ เกิดการหลอมรวมกันของลามลลาทุติยภูมิ (secondary lamellae) การฉีกขาดของเยื่อหุ้มเหงือก (epithelial layer) และเกิดการแบ่งตัวและการขยายขนาดของคลอไรด์เซลล์มากผิดปกติ (hypertrophy and hyperplasia) (Al-Ghanbousi *et al.*, 2012; Costin *et al.*, 2007) เซลล์มีการสร้างแวกคิวโอลจำนวนมาก (Vacuolization) เกิดการทำลายชั้นอีพิทีเลียม (desquamation) เกิดช่องว่างระหว่างเซลล์กว้างขึ้น (Al-Ghanbousi *et al.*, 2012; Cengiz, 2006)

นอกจากเนื้อเยื่อบริเวณเหงือกแล้ว เนื้อเยื่อไต และตับ ก็ถูกทำลายเช่นกัน (Staicu *et al.*, 2007) การได้รับเตลตาเมทรินสร้างความเสียหายต่อเนื้อเยื่อไต ได้แก่ การเสียหายของเยื่อหุ้มท่อไต การขยายตัวของเส้นเลือดฝอยที่ไกลเมอรูลัส เซลล์ที่ไกลเมอรูลัส ค่อยๆ ตายลง เซลล์เยื่อหุ้มท่อไตสร้างแวกคิวโอลมากขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้น และเกิดหลอดเลือดตีบ (Cengiz, 2006) การได้รับเตลตาเมทรินสร้างความเสียหายต่อเนื้อเยื่อตับ ชักนำการเจริญผิดปกติของเซลล์ตับและการขยายตัวของไซโทซอइट (Yön *et al.*, 2014)

การได้รับเตลตาเมทรินเรื้อรังส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ของปลา ในปลาเพศผู้พบว่าทำให้ระดับวิทเทโลเจนิน (vitellogenin) เพิ่มขึ้น บ่งชี้ความคล้ายเอสโตรเจนของเตลตาเมทริน ซึ่งรบกวนการทำงานของฮอโมนเพศ (Pullanna and Philip, 2014) พบการสลายตัวของเยื่อหุ้มท่อเซมินิเฟอรัส (seminiferous tubular membrane) ส่งผลโดยตรงต่อการสร้างสเปิร์ม (Pullanna and Philip, 2014; Koç *et al.*, 2012; Staicu *et al.*, 2007) ในปลาเพศเมียที่ได้รับเตลตาเมทรินถึงแม้ไม่พบว่าส่งผลกระทบต่อระดับวิทเทโลเจนิน (Pullanna and Philip, 2014) แต่ส่งผลต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เช่นเดียวกับที่พบในปลาเพศผู้ คือทำให้เกิดการเสื่อมสลายของโอโอไซต์ (oocytes) และฟอลลิเคิล (follicles) ในรังไข่ (Pullanna and Philip, 2014) ซึ่งเป็นเหตุให้ปริมาณไข่ลดลง (Pullanna and Philip, 2014; Sharma and Ansari, 2010)

ไพรีทรอยด์และสารเมแทบอลิท์ของไพรีทรอยด์ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายเอสโตรเจนยังรบกวนการทำงานของฮอโมนเพศ (Garey and Wolff, 1998; McCarthy *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2004; Xin and ShaoGuo, 2009) โดยส่งผลให้ระดับฮอโมน 17 $\beta$ -เอสตราไดออล (17 $\beta$ -estradiol) ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น (Forsgren *et al.*, 2013) นอกจากนี้ ยังกระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีนคอร์ริโอเจนิน (choriogenin) ซึ่งเป็นตัวรับเอสโตรเจน (Brander *et al.*, 2012; Taylor *et al.*, 2010) มีรายงานว่า การได้รับเอสโตรเจนความเข้มข้นต่ำทำให้ความดกไข่ของปลาเพิ่มขึ้น ในขณะที่การได้รับเอสโตรเจนความเข้มข้นสูงทำให้ความดกไข่ของปลาลดลง (Coe *et al.*, 2008; Gutjahr-Gobell *et al.*, 2006;

Imai *et al.*, 2005; Jobling *et al.*, 2003) ดังนั้น การได้รับเดลตามะทรินจึงทำให้ความตักไข่ของปลาเพิ่มขึ้นหรือลดลงได้

นอกจากเนื้อเยื่อเหงือก ไต ตับ และ อวัยวะสืบพันธุ์แล้ว ยังมีรายงานว่าเดลตามะทรินสามารถชักนำความผิดปกติของกระดูกได้ด้วย โดยมีหลักฐานว่าการได้รับเดลตามะทรินส่งผลต่อการพัฒนาของกระดูก การทดสอบด้วยเซลล์ออสติโอคลาสต์ (osteoclasts) พบว่าเดลตามะทรินยับยั้งการเปลี่ยนแปลง (differentiation) ของเซลล์ออสติโอคลาสต์ ซึ่งอาจส่งผลต่อสมดุลการสลายกระดูก (bone resorption) เช่น ทำให้เกิดกระดูกงอกผิดปกติได้ (Sakamoto *et al.*, 2012) เดลตามะทรินยังชักนำให้กระดูกเจริญผิดปกติในเอ็มบริโอ (Bhaskar *et al.*, 2012-13) แต่มีงานวิจัยไม่มากนักในปลา เช่น เอ็มบริโอปลาหมอที่ได้รับความยาวขากรรไกรล่างลดลง (DeMicco *et al.*, 2010) และมีรายงานว่าเดลตามะทรินชักนำภาวะแคลเซียมต่ำ (hypocalcemia) ในปลาจืดอินเดีย (*Heteropneustes fossilis*) (Srivastav *et al.*, 2010)

#### 1.2.1.5 ผลของเดลตามะทรินต่อการพัฒนาของเอ็มบริโอ

การได้รับเดลตามะทรินในระยะเอ็มบริโอส่งผลให้เกิดการพัฒนาที่ผิดปกติของอวัยวะต่างๆ เช่น เกิดการโค้งงอของแกนลำตัว (body axis) ร่วมกับอาการกล้ามเนื้อเกร็ง (spasms) การบวมน้ำ (edema) ตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย เช่น เยื่อหุ้มเพอริคาร์ด (pericard) และเยื่อหุ้มไข่แดง (yolk sac) ซึ่งเป็นความผิดปกติเช่นเดียวกับการได้รับไพรีทรอยด์อื่นๆ เช่น ไบเฟนทริน (bifenthrin) เฟนวาเลอเรท (fenvalerate) แลมดา-ไซฮาโลทริน (lambda-cyhalothrin) ไซเปอร์เมทริน (cypermethrin) เพอร์เมทริน (permethrin) และเรสมะทริน (resmethrin) (DeMicco *et al.*, 2010; Jin *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2008)

เดลตามะทรินเป็นสารที่ละลายได้ดีในไขมัน ( $\log K_{ow}$  เป็น 4.6 ที่ 25°C; Tomlin, 1994) และมีรายงานว่าสารที่ละลายในไขมันบางชนิดของแม่ปลาสามารถก่อให้เกิดความผิดปกติในรุ่นลูกได้ (Chen *et al.*, 2012; Corrales *et al.*, 2014; Deng *et al.*, 2010; Han *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2011; Sharpe *et al.*, 2010; Thomas and Janz, 2014; Van de Merwe *et al.*, 2011; Velasco-Santamaria *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011; Wen *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2014) เพราะสารที่ละลายในไขมันเหล่านี้สามารถส่งผ่านจากแม่สู่เอ็มบริโอ จึงมีความเป็นไปได้ว่าการได้รับเดลตามะทรินของแม่ปลาอาจส่งผลให้เกิดความผิดปกติของลูกปลาได้เช่นกัน แต่ยังไม่มียางานว่าสารกลุ่มไพรีทรอยด์สามารถส่งผ่านจากแม่สู่เอ็มบริโอได้หรือไม่ และส่งผลกระทบต่อพัฒนาของเอ็มบริโออย่างไร มีเพียงรายงานว่าได้รับเดลตามะทรินของแม่ปลา ส่งผลให้อัตราฟัก (hatchability) ลดลง (Sharma and Ansari, 2010)

### 1.2.2 ความสัมพันธ์ของความผิดปกติของกระดูกและการได้รับสารพิษ

ความผิดปกติของกระดูกและการปนเปื้อนของมลพิษในน้ำมีความสัมพันธ์กัน ในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนโลหะหนัก (Alaya *et al.*, 2011; Lemly, 2014; Sun *et al.*, 2009; Kessabi *et al.*, 2013; Messaoudi *et al.*, 2009) สารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (PAHs) (Kessabi *et al.*, 2013; Messaoudi *et al.*, 2009) บริเวณที่มีการขุดเจาะน้ำมัน (Zaera and Johnsen, 2011) บริเวณที่มีการปนเปื้อนของกัมมันตรังสี (Bogutskaya *et al.*, 2011) น้ำเสียจากตัวเมือง (Annabi *et al.*, 2015) น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม (Diggles, 2013) หรือแหล่งน้ำใกล้เขตเกษตรกรรม ที่ปนเปื้อนยาฆ่าแมลง (Diggles, 2013; Dutta *et al.*, 2013; Dutta *et al.*, 2011) มักเป็นบริเวณที่สำรวจพบปลาที่มีกระดูกสันหลังผิดปกติได้ (ตารางที่ 1.2)

ตารางที่ 1.2 ผลสำรวจปลาที่พบความผิดปกติของกระดูกสันหลังในแหล่งน้ำต่างๆ และสิ่งปนเปื้อน

สิ่งปนเปื้อน	พื้นที่	สปีชีส์	อ้างอิง
สารเคมีทางการเกษตรและยาฆ่าแมลง	รัฐปันจาบ อินเดีย	<i>Labeo rohita</i> ; <i>Cirrhinus mrigala</i>	Dutta <i>et al.</i> , 2013; Dutta <i>et al.</i> , 2011
สารเคมีทางการเกษตร	ตะวันออกเฉียงใต้ของควีนส์แลนด์	<i>Acanthopagrus australis</i>	Diggles, 2013
อุตสาหกรรมและบ้านเรือน	ประเทศออสเตรเลีย		
สารเคมีทางการเกษตร และบ้านเรือน โลหะหนัก	อ่าว Gabès และชายฝั่ง ประเทศตูนิเซีย	<i>Aphanius fasciatus</i> ; <i>Gambusia affinis</i>	Annabi <i>et al.</i> , 2015; Kessabi <i>et al.</i> , 2013; Messaoudi <i>et al.</i> , 2009
โลหะหนัก	ทะเลสาบตูนิสเหนือ ประเทศตูนิเซีย	<i>Syngnathus abaster</i>	Alaya <i>et al.</i> , 2011
แอมมโมเนีย ตะกั่ว สังกะสี	แม่น้ำในตะวันตกเฉียงใต้ของไต้หวัน	<i>Oreochromis spp.</i>	Sun <i>et al.</i> , 2009
สารปนเปื้อนในแหล่งขุดเจาะน้ำมัน	แหล่งเจาะน้ำมันในประเทศแองโกลา	<i>Mustelus mustelus</i>	Zaera and Johnsen, 2011
น้ำเสียจากถ่านหิน	ทะเลสาบ Sutton, รัฐนอร์ธ แคโรไลนา	<i>Lepomis macrochirus</i>	Lemly, 2014
สารกัมมันตรังสี	เมือง Chelyabinsk ของรัสเซีย	<i>Rutilus rutilus</i>	Bogutskaya <i>et al.</i> , 2011

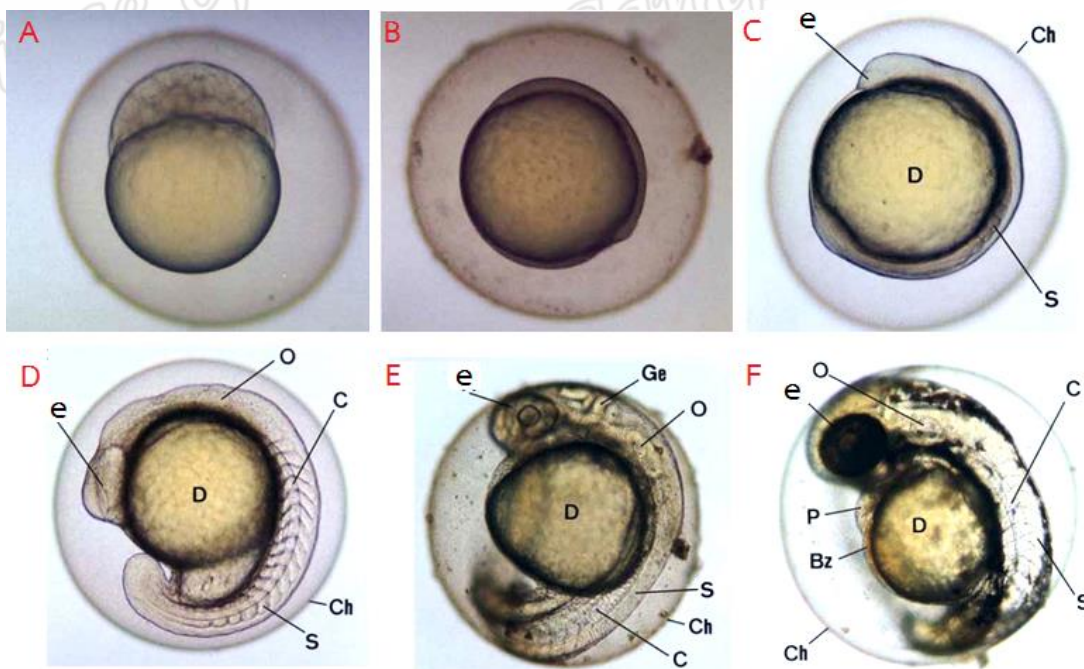
การทดสอบผลของคอปเปอร์ ไพริไทโอน (copper pyrrithione) ไดซัลไฟแรม (disulfiram) กรดอะซีติกไฮไดรไรด์ (acetic acid hydrazide) ไดไทโอคาร์บาเมต (dithiocarbamates) เอทานอล (ethanol) พีซีบี (polychlorinated biphenyl; PCB) เพอร์เมทริน (permethrin) เพอร์ฟลูออโรออกเทน (perfluorooctane) ไตรบิวทิลดีน (tributyltin) และ ทีซีดีดี (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin; TCDD) ในห้องปฏิบัติการสนับสนุนแนวคิดนี้เช่นกัน (Carvan *et al.*, 2004; Çelik *et al.*, 2012; DeMicco *et al.*, 2010; Hornung *et al.*, 1999; Mochida *et al.*, 2008; Olufsen and Arukwe, 2011; Rigaud *et al.*, 2013; Strecker *et al.*, 2013; Teraoka *et al.*, 2002; Tilton *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2012) โดยปลาที่ได้รับสารเหล่านี้จะแสดงความผิดปกติ ได้แก่ มีการเกิดกระดูกแข็ง (ossification) เพิ่มขึ้นหรือลดลง (Mochida *et al.*, 2008; Strecker *et al.*, 2013; Olufsen and Arukwe, 2011; Spachmo and Arukwe, 2012) รูปร่างกะโหลกศีรษะและขากรรไกรผิดปกติ (Carvan *et al.*, 2004; DeMicco *et al.*, 2010; Rigaud *et al.*, 2013; Strecker *et al.*, 2013; Teraoka *et al.*, 2002) แกนลำตัว (notochord) และกระดูกสันหลังผิดปกติ (Çelik *et al.*, 2012; Mochida *et al.*, 2008; Strecker *et al.*, 2013; Tilton *et al.*, 2006)

### 1.2.3 ปลาฆ่าตาย

ปลาเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (bioindicator) ที่ดีของการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ผลการสำรวจความผิดปกติของปลาที่สัมผัสกับการปนเปื้อนในแหล่งน้ำ เช่น โลหะหนัก ยาฆ่าแมลง (Khodadoust *et al.*, 2013; Sabra and Mehana, 2015) ปลาฆ่าตายเป็นหนึ่งในสัตว์มีกระดูกสันหลังที่มีความสำคัญต่อการศึกษาพิษวิทยาสิ่งแวดล้อม (environmental toxicology) และพิษวิทยาของการพัฒนา (developmental toxicity) (Baumann *et al.*, 2014; McNeil *et al.*, 2014; Nagel, 2001; Naderi *et al.*, 2014; Scholz *et al.*, 2008; Thomas and Janz, 2014; Vincze *et al.*, 2014) การใช้ปลาฆ่าตายเป็นสัตว์ทดลองมีข้อดีหลายประการ เช่น เป็นปลาที่มีขนาดเล็ก ทนทาน มีลูกมาก มีการสืบพันธุ์ตลอดปี ทำให้สามารถผลิตและเลี้ยงในห้องทดลองได้ง่ายและประหยัดค่าใช้จ่าย ปลาเพศเมียสามารถวางไข่ได้ทุกๆ 2-3 วัน ตัวเมียแต่ละตัววางไข่ได้ประมาณ 100 ฟองในแต่ละรุ่น กอปรกับเป็นปลาที่มีวงจรชีวิตสั้น (ประมาณ 3-4 เดือน) จึงเหมาะต่อการใช้เป็นสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ ไข่ของปลาฆ่าตายยังมีลักษณะโปร่งใส มีส่วนของไข่แดงแยกจากส่วนของเซลล์ชัดเจน (Spence *et al.*, 2008) การพัฒนาของเอ็มบริโอค่อนข้างเร็ว อวัยวะหลักมีการพัฒนาภายในเวลาเพียง 36 ชั่วโมง (Kimmel *et al.*, 1995) ในทางพิษวิทยา ข้อดีอีกประการหนึ่งคือ ไข่ปลาฆ่าตายเป็นไข่ที่ไม่เกาะติดแต่จะจมสู่พื้น จึงสัมผัสทั้งส่วนน้ำและตะกอน ทำให้สามารถใช้ทดสอบได้ทั้งสารที่ปนเปื้อนในน้ำ (Chan and Chan, 2012; Jin *et al.*, 2009) และในตะกอนดิน

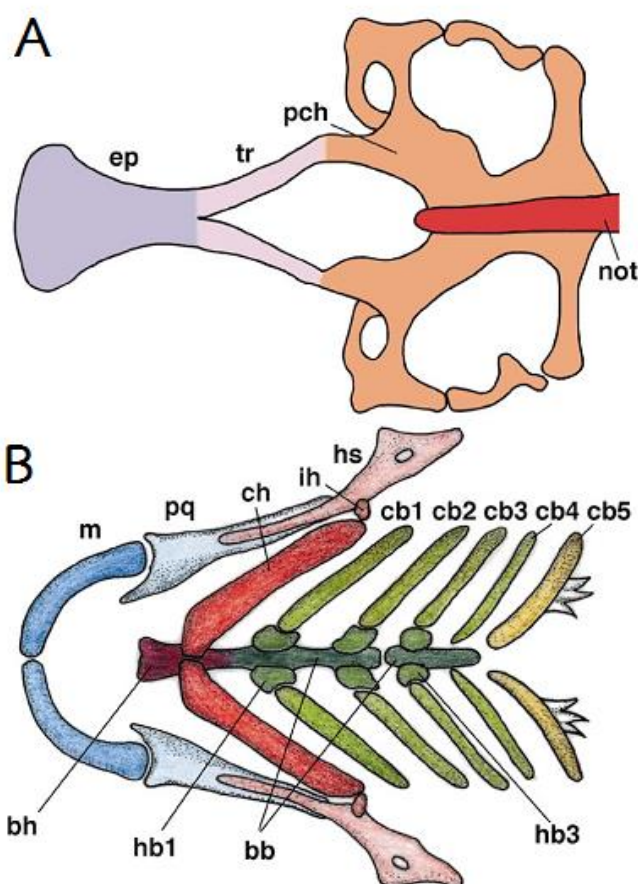
(Vicquelin *et al.*, 2011) และที่สำคัญคือ การปฏิสนธิภายนอก ซึ่งทำให้ง่ายต่อการจัดการและการสังเกตการทดลองภายใต้กล้องจุลทรรศน์

หลังปฏิสนธิ ไซโกต (zygote) จะแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนจนเข้าสู่ระยะบลาสตูลา (blastula) ที่เวลาประมาณ 2 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ (ภาพที่ 1.2A) และสิ้นสุดระยะบลาสตูลาร์ จากนั้นเซลล์จึงเริ่มเคลื่อนย้ายแผ่ลงหุ้มไข่แดง (epibolic movement) ที่เวลาประมาณ 4 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ และสิ้นสุดการเคลื่อนที่จนเกือบหุ้มไข่แดงสนิทเหลือเป็นช่องบลาสโตพอร์ (blastopore) ที่เวลาประมาณ 10 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ (ภาพที่ 1.2B) จากนั้นโซไมต์ (somite) ปล้องแรกจึงเริ่มพัฒนา แต่ยังไม่มีความแตกต่างระหว่างส่วนที่เป็นลำตัวและหาง (metameric) ในช่วง 12 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ (ภาพที่ 1.2C) แต่จะเห็นชัดเจนที่เวลาประมาณ 20 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ ซึ่งจะเห็นการบิดตัวของกล้ามเนื้อ (muscular twitches) และส่วนหางพัฒนาชัดเจน (ภาพที่ 1.2D) ส่วนหางจะแยกตัวจากไข่แดงที่เวลาประมาณ 24 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ (ภาพที่ 1.2E) ในระยะนี้เริ่มปรากฏการสร้างเมดิสตามาลำตัว หลังจากนั้นที่เวลาประมาณ 30 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ จึงปรากฏเมดิสตาที่เรตินา (retina) และสามารถเห็นการไหลเวียนเลือดบริเวณแอ่งเลือด (aortic arch) แต่จะเห็นการเต้นของหัวใจชัดเจนที่เวลาประมาณ 36 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ (ภาพที่ 1.2F) ลูกปลาเริ่มพฤติกรรมหาคำอาหารและหลบหลีกศัตรูได้ในเวลาประมาณ 5 วันหลังปฏิสนธิ (Kimmel *et al.*, 1995)



ภาพที่ 1.2 การพัฒนาปกติของเอ็มบริโอปลาหม้อลาย อักษรย่อแสดงดังนี้ eye (e), blood cells (Bz), chorda (C), chorion (Ch), yolk (D), brain (Ge), Otic (O), pericard (P) และ somites (S) (Braunbeck, and Lammer, 2006)

กระดูกปลาหมึกถูกสร้างขึ้นตั้งแต่ระยะที่ยังเป็นในเอ็มบริโอ โดยโครงสร้างระยะนี้ส่วนใหญ่ประกอบด้วยกระดูกอ่อน ซึ่งประกอบด้วยเซลล์เพียงสองชนิด คือ คอนโดโรไซต์ (chondrocytes) และ เซลล์เพอริคอนเดรียล (perichondrial cells) ซึ่งกระดูกอ่อนส่วนใหญ่เรียงตัวอยู่บริเวณใกล้ผิวหนังทำให้ง่ายต่อการศึกษา กระดูกกะโหลกศีรษะแบ่งเป็นสองส่วน (ภาพที่ 1.3) คือ ส่วนของนิวโรคราเนียม (neurocranium) ซึ่งทำหน้าที่ปกป้องสมองและอวัยวะรับสัมผัสต่างๆ และกระดูกบริเวณขากรรไกรและคอหอย (pharyngeal skeleton) ซึ่งทำหน้าที่ในการกินอาหารและการหายใจ (Kimmel *et al.*, 2001)



ภาพที่ 1.3 ภาพวาดของกระดูกอ่อนปลาหมึกอายุ 5 วันหลังดองใส A) ส่วนของกระดูกอ่อนนิวโรคราเนียมและโนโตคอร์ตัมมองด้านหลัง B) ส่วนของกระดูกบริเวณขากรรไกรและคอหอยจากมุมมองด้านหน้าห้อง อักษรย่อแสดงดังนี้ basibranchial (bb), basihyal (bh), ceratobranchial (cb), ceratohyal (ch), ethmoid plate (ep), hypobranchial (hp), hyosymplectic (hs), interhyal (ih), Meckel's cartilage (m), not, notochord, parachordal (pch), palatoquadrate (pq) และ trabecular (tr) (Kimmel *et al.*, 2001)

### 1.3 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของเตลตาเมทรินต่อปลาฆ่าตายระยะเอ็มบริโอและตัวเต็มวัย
2. เพื่อศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเตลตาเมทรินต่อปลาฆ่าตายระยะเอ็มบริโอและหลังระยะเอ็มบริโอโดยสัมผัสสารโดยตรง
3. เพื่อศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเตลตาเมทรินต่อปลาฆ่าตายระยะเอ็มบริโอโดยให้แม่ปลาสัมผัสสาร

Prince of Songkla University  
Pattani Campus

## บทที่ 2

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 2.1 การเตรียมสารเคมี

งานวิจัยนี้ใช้เดลตาเมทรินทั้งเกรดการค้า (Detavos® E.C.; 1% w/v deltamethrin; Pato Chemical Industry Co., Ltd.) และเกรดมาตรฐานสำหรับงานวิเคราะห์ (analytical reagent grade; purity > 99.5% Supelco™ Analytical) เตรียมสารละลายตั้งต้น (stock solution) ของเดลตาเมทรินเกรดมาตรฐานฯ และเดลตาเมทรินเกรดการค้า ในขวดแก้วปลอดแสงที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายเดลตาเมทรินเกรดมาตรฐานฯ และใช้น้ำกลั่นเจือจางเดลตาเมทรินเกรดการค้าจนได้ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร และเก็บที่อุณหภูมิ 10°C สารละลายที่ใช้ทดสอบจะได้รับการเจือจางสารละลายตั้งต้นจนได้ความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ เพื่อลดความคลาดเคลื่อนของความเข้มข้นอันเนื่องจากการเสื่อม (degradation) และการถูกดูดซับสู่ผิวภาชนะที่ใช้ทดสอบ (Lee *et al.*, 2002; Wheelock *et al.*, 2005) สารละลายที่จะใช้ทดสอบนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง และเติมลงในภาชนะทดสอบล่วงหน้าก่อนการทดสอบ 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงเปลี่ยนสารละลายใหม่ก่อนการทดสอบอีกครั้ง ทำการทดสอบภายใต้ภาวะกึ่งคงที่ (semi-static) โดยถ่าย 80% ของสารละลายที่ทดสอบเป็นสารละลายที่เตรียมใหม่ทุก ๆ 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบเป็นความเข้มข้นที่ได้จากการคำนวณ (nominal concentration)

#### 2.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง

##### 2.2.1 การดูแลสัตว์ทดลองในห้องปฏิบัติการ

ปลาม้าลายตัวเต็มวัยสายพันธุ์ดั้งเดิม (Wild type) ความยาวประมาณ 3 เซนติเมตร ชื้อจากฟาร์มในจังหวัดราชบุรี นำมาปรับสภาพก่อนการทดสอบอย่างน้อย 2 สัปดาห์ ในตู้กระจกขนาด 60 ลิตร มีระบบกรองน้ำและระบบหมุนเวียนน้ำ ให้อาหารสำเร็จรูป Okane® (Betagro Public Co., Ltd.) ปริมาณมากเกินพอ 2 ครั้งต่อวัน เลี้ยงภายใต้แสงธรรมชาติ (ประมาณ 12 ชั่วโมงต่อวัน) (ภาพที่ 2.1)

##### 2.2.2 การเก็บตัวอย่างเอ็มบริโอ

การเก็บตัวอย่างเอ็มบริโอทำได้โดย ย้ายปลาม้าลายตัวเต็มวัยอัตราส่วนเพศผู้: เพศเมียเป็น 1:1 รวม 30-40 ตัว สู่ภาชนะเพาะพันธุ์ขนาดความจุ 10 ลิตร ภายในมีตาข่ายความห่าง 2 มิลลิเมตรรองรับที่กั้นภาชนะ บรรจุน้ำกรอง 8 ลิตร พร้อมปั๊มลมเพื่อหมุนเวียนน้ำ มีสาหร่ายหางกระรอกเพื่อกระตุ้นการวางไข่ แสงจากหลอดไฟที่ต่อกับเครื่องตั้งเวลาเปิด-ปิดอัตโนมัติ (ภาพที่

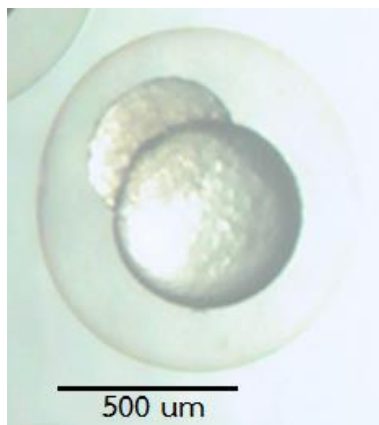
2.2) เมื่อปลาได้รับแสงอีกครั้งในเช้าวันถัดไป ปลาจะเริ่มวางไข่ จะได้เอ็มบริโอตกอยู่ที่ก้นภาชนะเพาะ ย้ายพ่อแม่ปลาคืนสู่อุโมงค์ปลา นำตาข่ายรองก้นภาชนะออก นำน้ำในภาชนะไปกรองด้วยผ้าตาข่าย เอ็มบริโอจะติดบนผ้า ล้างด้วยน้ำกรองจนตะกอนออกหมด นำเอ็มบริโอที่ได้ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ตรวจสอบภายใต้กล้อง เลือกลงไข่เฉพาะไข่ที่ได้รับการผสมและไม่มีตำหนิเท่านั้น ใช้เอ็มบริโอทำยาระยะบลาสตูลา (late blastula) หรือ 3 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิในทุกการทดสอบ (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.1 ปลาม้าลายตัวเต็มวัยในตู้กระจกโดยมีระบบกรองน้ำและระบบหมุนเวียนน้ำ



ภาพที่ 2.2 การติดตั้งภาชนะเพื่อเก็บเอ็มบริโอปลาม้าลาย (A) การติดตั้งภาชนะและการให้แสง (B) ภายในภาชนะ ประกอบด้วยตาข่ายรองก้นภาชนะ ปลาม้าลาย สำหรับย้ายทางกระบอก และหัวทรายที่ต่อจากปั๊มลม



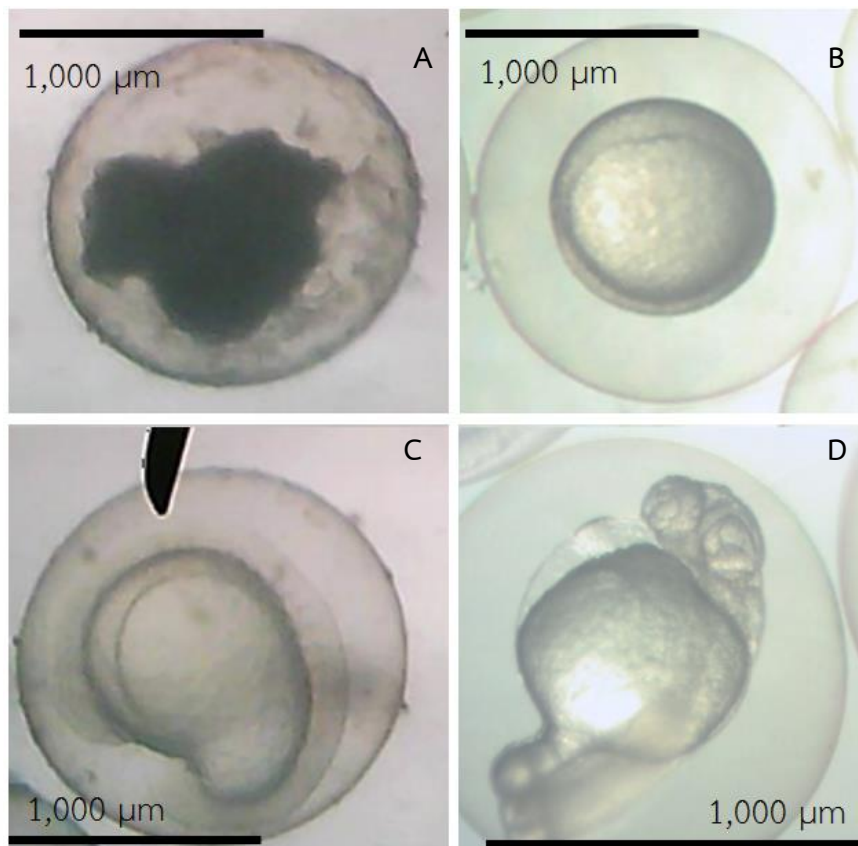
ภาพที่ 2.3 เอ็มบริโอท้ายระยะบลาสตูลา (late blastula)

## 2.3 วิธีทดสอบพิษของเตลตาเมทรินต่อปลาหม้อลาย

### 2.3.1 วิธีทดสอบพิษเฉียบพลันของเตลตาเมทรินต่อปลาหม้อลาย

#### 2.3.1.1 วิธีทดสอบพิษเฉียบพลันของเตลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาหม้อลาย

หลังจากทดสอบหาช่วงของความเป็นพิษของเตลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาหม้อลายพบว่า ความเป็นพิษอยู่ในช่วง 10-100 ไมโครกรัม/ลิตร ทำการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันแบบกึ่งคงที่ในขวดแก้วความจุ 10 มิลลิลิตร ใช้เอ็มบริโอปลาหม้อลายรวม 720 ตัว ทดสอบเอ็มบริโอ 30 ตัวต่อความเข้มข้น โดยใช้ 1 เอ็มบริโอต่อ 3 มิลลิลิตรของเตลตาเมทรินต่อขวด ความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบได้แก่ เตลตาเมทริน (ทั้งเตลตาเมทรินเกรดมาตรฐานฯ และเตลตาเมทรินเกรดการค้า) ความเข้มข้น 10 13.5 18 24 และ 32 ไมโครกรัม/ลิตร ใช้น้ำกรองในกลุ่มควบคุมของชุดทดสอบเตลตาเมทรินเกรดการค้า และใช้อะซีโตนความเข้มข้น 0.0032% (ปริมาตร/ปริมาตร) ซึ่งเทียบเท่าความเข้มข้นของอะซีโตนในสารละลายเตลตาเมทรินความเข้มข้นสูงสุดในกลุ่มควบคุมของชุดทดสอบเตลตาเมทรินเกรดมาตรฐานฯ บันทึกการตายสะสม ณ เวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ โดยการจับตัวของโปรตีน (coagulation) ใน 0-24 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ การไม่พัฒนาไซเมตใน 24-48 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ การไม่มีส่วนของหางซึ่งแยกออกจากไข่แดง (non-detachment of tail) และไม่มี การเต้นของหัวใจใน 48-96 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ เป็นเกณฑ์การตาย (ภาพที่ 2.4) และทำการทดสอบรวม 2 ซ้ำของการทดลอง คำนวณค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง (ขีดความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95) โดยการวิเคราะห์โพรบิท (Probit analysis) วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าการตายสะสมระหว่างเอ็มบริโอที่ทดสอบด้วยเตลตาเมทรินเกรดการค้า และเตลตาเมทรินเกรดมาตรฐานฯ โดยการวิเคราะห์ไคแอสควร์ (Chi-square test)



ภาพที่ 2.4 เกณฑ์การตายของเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย A) การจับตัวของโปรตีน B) การไม่พัฒนาไซไมต์ C) การไม่มีส่วนของหางแยกจากไข่แดง D) ไม่มีการเต้นของหัวใจ

### 2.3.1.2 วิธีทดสอบพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินต่อปลาฆ่าลายตัวเต็มวัย

หลังจากทดสอบหาช่วงของความเป็นพิษของเดลตาเมทรินต่อปลาฆ่าลาย พบว่าความเป็นพิษอยู่ในช่วง 1-10 ไมโครกรัม/ลิตร ทำการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันแบบกึ่งคงที่ในแก้วความจุ 200 มิลลิลิตร ใช้ปลาฆ่าลายเพศผู้และเพศเมียรวม 120 และ 100 ตัว ตามลำดับ ทดสอบ 10 ตัวต่อความเข้มข้น ใส่ปลา 1 ตัวต่อ 100 มิลลิลิตรของเดลตาเมทรินต่อแก้ว ทดสอบปลาฆ่าลายเพศผู้ด้วยเดลตาเมทรินเกรดการค้าเทียบเท่าเดลตาเมทรินความเข้มข้น 5.6 6.5 7.5 8.7 และ 10 ไมโครกรัม/ลิตร และทดสอบปลาฆ่าลายเพศเมียด้วยเดลตาเมทรินเกรดการค้า เทียบเท่าเดลตาเมทรินความเข้มข้น 7.5 8.7 10 และ 11.5 ไมโครกรัม/ลิตรโดยใช้น้ำกรองในกลุ่มควบคุม บันทึกรายการตายสะสม ณ เวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ และทำการทดสอบรวม 2 ชั่วโมงของการทดลอง คำนวณค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง (ขีดความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95) โดยการวิเคราะห์โพรบิท วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าการตายสะสมระหว่างปลาเพศผู้และเพศเมียทดสอบด้วยเดลตาเมทรินเกรดการค้า โดยการวิเคราะห์ไคแอสควร์

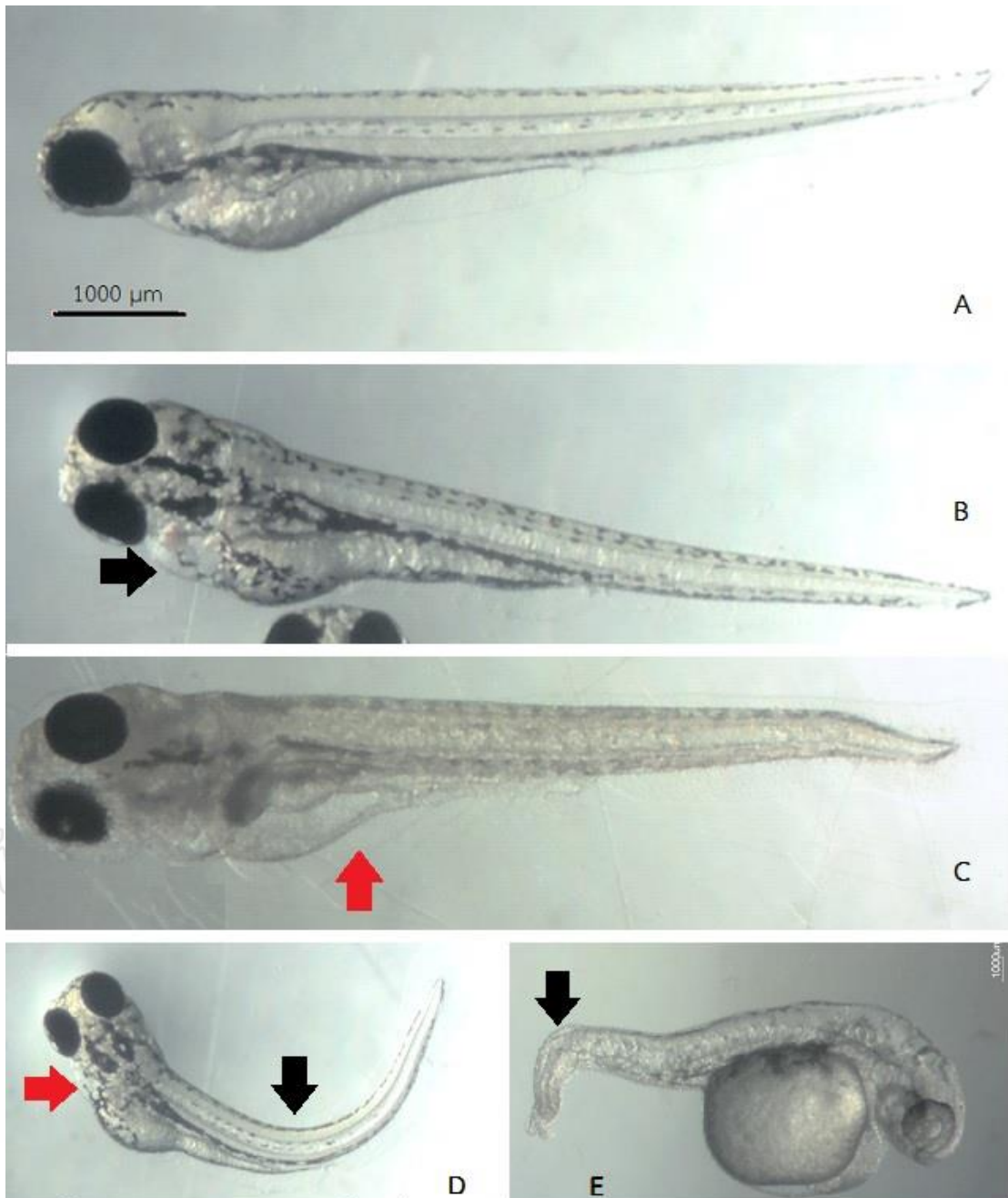
## 2.3.2 วิธีทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย

### 2.3.2.1 วิธีทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายโดยการสัมผัสสารโดยตรง

#### 2.3.2.1.1 วิธีทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายโดยการสัมผัสสารโดยตรงเป็นเวลา 7 วัน

ทำการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายเมื่อได้รับโดยตรงภายใต้ระบบกึ่งคงที่ การทดสอบนี้ใช้เอ็มบริโอปลาฆ่าลายรวม 480 ตัว โดยใช้เอ็มบริโอ 60 ตัวต่อ 1 ความเข้มข้น ทำการทดสอบในขวดแก้วขนาด 10 มิลลิลิตร ซึ่งภายในบรรจุสารละลายเดลตาเมทรินปริมาตร 3 มิลลิลิตรและเอ็มบริโอ 1 ตัว ทดสอบสารละลายเดลตาเมทรินเกรดการค้าเทียบเท่าเดลตาเมทรินความเข้มข้น 0.023 0.23 และ 2.3 ไมโครกรัม/ลิตร (1/1000-1/10 ของ LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง) และใช้น้ำสะอาดในกลุ่มควบคุม ทดสอบรวมทั้งสิ้น 2 ซ้ำ เป็นเวลา 7 วัน บันทึกความผิดปกติขั้นต้น (gross abnormalities) แล้วจึงดองใสโดยไม่ใช้กรด (acid-free staining) (Walker and Kimmel, 2007) โดยย้อมเอ็มบริโอ 30 ตัวจากแต่ละความเข้มข้นแบบสองสีเพื่อศึกษาการพัฒนาของกะโหลกศีรษะและย้อมเอ็มบริโอ 30 ตัวที่เหลือด้วยสีอะลิซารินเรด (alizarin red) เพียงสีเดียวเพื่อศึกษาการเกิดกระดูกแข็ง

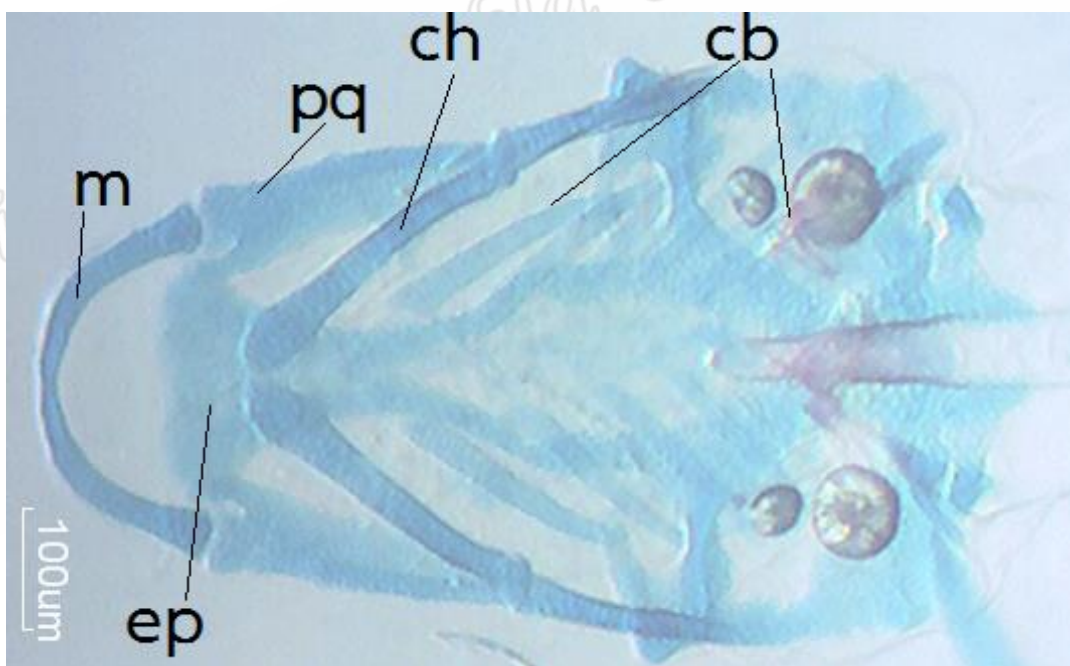
บันทึกความผิดปกติเบื้องต้น ดังต่อไปนี้ ความถี่ของการเกิดลำตัวโค้งงอ (curve body) การบวมน้ำ (edema) อาการกล้ามเนื้อกระตุก (spasm) การตกเลือด (hemorrhage) การผิดรูป (deformity) และถุงลมไม่พองออก (uninflated swimbladder) (ภาพที่ 2.5) วิเคราะห์ความต่างระหว่าง ความถี่ของการเกิดความผิดปกติ ของเอ็มบริโอปลาฆ่าลายที่ได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุม โดยการวิเคราะห์ไคแอสควร์



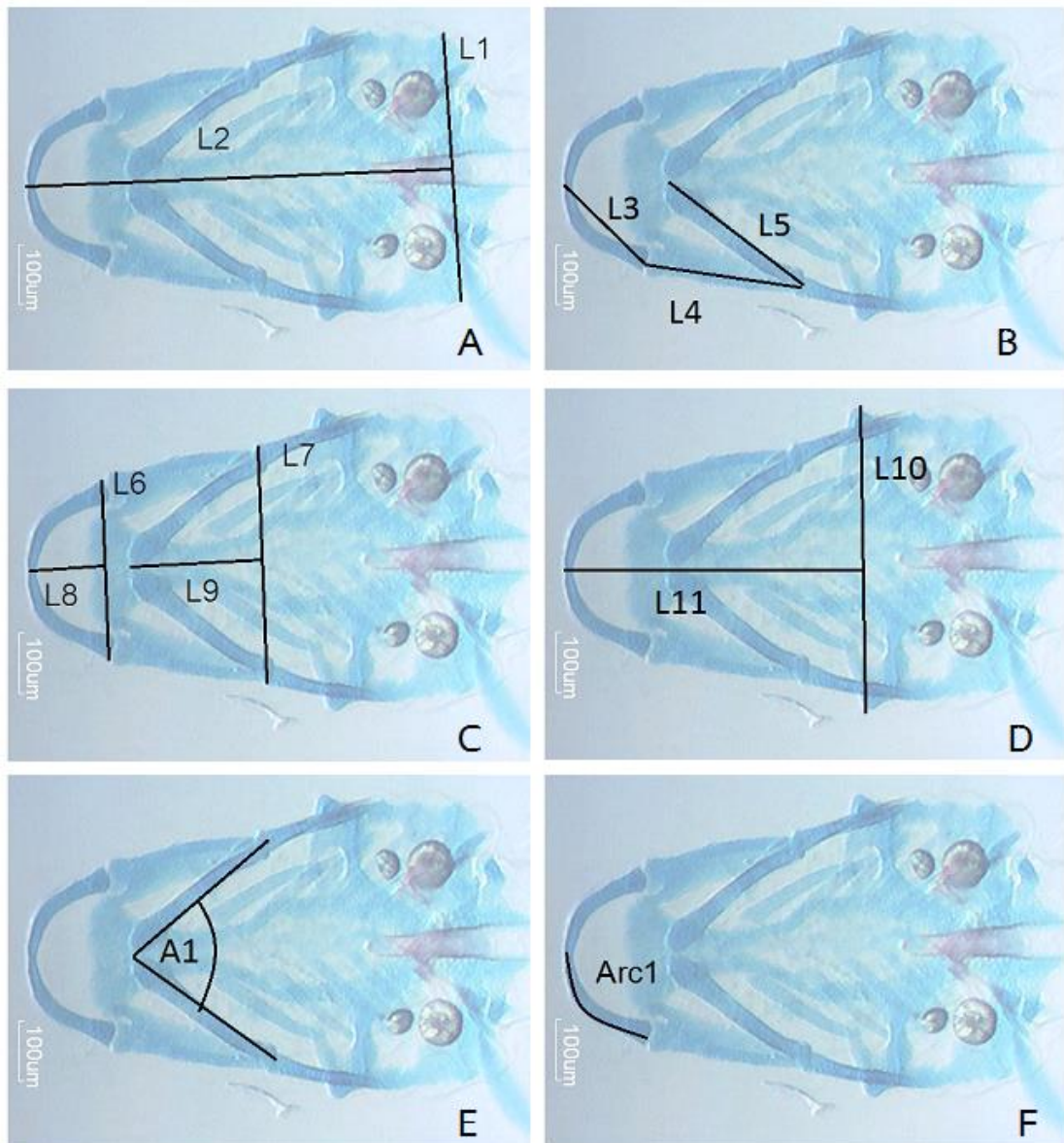
ภาพที่ 2.5 เอ็มบริโอปลาหม้าลายที่ 72 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ A)เอ็มบริโอปกติ B-D)เอ็มบริโอผิดปกติ B) ลูกศรสีดำแสดงการบวมน้ำของเยื่อหุ้มหัวใจและการตกเลือด C) ลูกศรสีแดงแสดงการบวมน้ำของเยื่อหุ้มไขแดง D) ลูกศรสีแดงแสดงการบวมน้ำของเยื่อหุ้มหัวใจ ลูกศรสีดำแสดงลำตัวโค้งงอ E) ลูกศรสีดำแสดงการผิดปกติของหาง

คงสภาพเอ็มบริโอในสารละลายฟอร์มาลินในบัฟเฟอร์ที่เป็นกลาง (buffered-neutral formalin) ตามด้วยการดองสีโดยไม่ใช้กรด (acid-free staining) (Walker and Kimmel, 2007) บันทึกภาพถ่ายโดยกล้องดิจิทัล (Moticam 1000) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stemi 2000-C) บันทึกการผิดปกติของเซอราโตบรานเจียล (ceratobranchial) เซอราโตไฮอัล (ceratohyal) เอทมอยด์เพลท (ethmoid plate) และกระดูกอ่อนเมคเคล (Meckel's cartilage) เทียบกับกระดูกอ่อนปกติ (ภาพที่ 2.6) วิเคราะห์ความต่างระหว่างความถี่ของการเกิดกระดูกอ่อนผิดปกติของเอ็มบริโอปลาฆ่าลายที่ได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุม โดยการวิเคราะห์ไคแอสควร์

หลังจากบันทึกภาพถ่าย วัดขนาดจากภาพถ่ายด้วยโปรแกรม Motic plus 2.0 บันทึกขนาดของกะโหลกศีรษะของเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย ดังภาพที่ 2.7 วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างขนาดของกะโหลกศีรษะปลาฆ่าลายที่ได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุม ด้วยการวิเคราะห์โดยทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของประชากรสองกลุ่ม (independent-samples T test)



ภาพที่ 2.6 กระดูกอ่อนปลาฆ่าลายอายุ 7 วันหลังดองสี แสดงมุมมองด้านหน้าท้อง อักษรย่อแสดงดังนี้ ceratobranchial (cb), ceratohyal (ch), ethmoid plate (ep), Meckel's cartilage (m), palatoquadrate (pq) (Kimmel *et al.*, 2001)

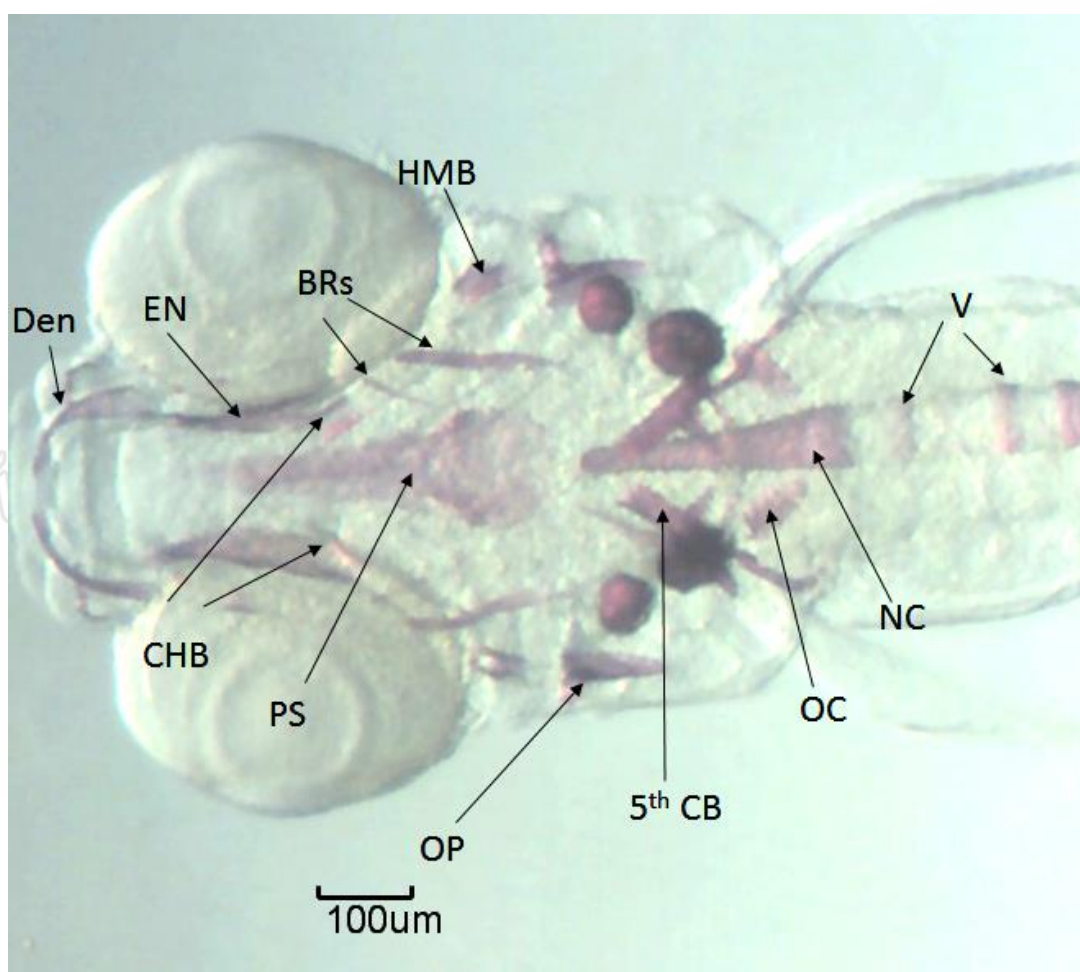


ภาพที่ 2.7 วิธีการวัดขนาดกะโหลกศีรษะของเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย อายุ 7 วันหลังดองใส สัตว์ลักษณะ  
แสดงในตารางที่ 2 A-D) แสดงวิธีวัดขนาด L1-L11 E) แสดงวิธีวัดมุมของเซอราโตไฮอัล  
F) แสดงวิธีวัดความยาวตามส่วนโค้งของกระดูกอ่อนเมคเคล

ตารางที่ 2 สัญลักษณ์ของวิธีการวัดขนาดกะโหลกศีรษะของเอ็มบริโอปลาหม้อลายอายุ 7 วัน

วิธีการวัดขนาด	สัญลักษณ์
ระยะห่างระหว่างออกซิพิทัลอาร์ช (occipital arch) ซ้ายและขวา	L1
ความยาวกะโหลกศีรษะ	L2
ความยาวของกระดูกอ่อนเมคเคล (Meckel's cartilage) ขวา	L3
ความยาวของพาลาโตควอดเรท (palatoquadrate) ขวา	L4
ความยาวของเซอราโตไฮอัล (ceratohyal) ขวา	L5
ระยะห่างระหว่างปลายด้านหลังของกระดูกอ่อนเมคเคลซ้ายและขวา	L6
ระยะห่างระหว่างเซอราโตไฮอัลซ้ายและขวา	L7
ระยะห่างระหว่างปลายด้านหน้าของกระดูกอ่อนเมคเคลและ L6	L8
ระยะห่างระหว่างปลายด้านหน้าเซอราโตไฮอัลและ L7	L9
ระยะห่างระหว่างแอนทีเรีย บาสีคราเนียล คอมมิชเชอร์ (anterior basicranial commissure) ซ้ายและขวา	L10
ระยะห่างระหว่างปลายด้านหน้าของกระดูกอ่อนเมคเคลและ L10 ขวา	L11
องศาของเซอราโตไฮอัล	A1
ความยาวตามส่วนโค้งของกระดูกอ่อนเมคเคลขวา	ARC1

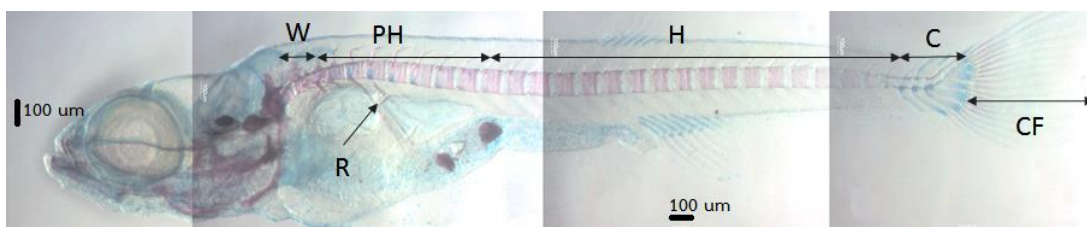
บันทึกความถี่ของการเกิดกระดูกแข็ง (ossification) ของกระดูกพาราสฟินอยด์ (parasphenoid) ออกซิพิทัล (occipital) โนโตคอร์ด (notochord) เดนทารี (dentary) เอนทอปเทอริกอยด์ (entopterygoid) บรานคีโอสตีกาล เรย์ส (branchiostegal rays) โอเปอร์เคิล (opercle) ไฮโอมแนดิบูลาร์ (hyomabdibular) เซอราโตไฮอัล (ceratohyal bone) เซอราโตบรานคีเยลที่ 5 (5<sup>th</sup> ceratobranchial) และกระดูกสันหลัง (vertebrae) (ภาพที่ 2.8) วิเคราะห์ความต่างระหว่างความถี่ของการเกิดกระดูกแข็งของเอ็มบริโอปลาหม้อลายที่ได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุมโดยการวิเคราะห์ไคแอสควร์



ภาพที่ 2.8 ตำแหน่งของกระดูกแข็งปลาหม้อลายอายุ 7 วันหลังดองใส อักษรย่อแสดงดังนี้ parasphenoid (PS), occipital (OC), notochord (NC), dentary (DEN), entopterygoid (EN), branchiostegal rays (BRs), opercle (OP), hyomabdibular (HMB), ceratohyal bone (CB), 5<sup>th</sup>ceratobranchial (5<sup>th</sup>CB), vertebrae (V)

### 2.3.2.1.2 วิธีทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอและ ลาร์วาปลาหมากลายโดยการสัมผัสสารโดยตรงเป็นเวลา 30 วัน

ทำการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังระยะยาวของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาหมากลายเมื่อได้รับโดยตรงในโหลแก้วขนาด 6 ลิตร ทดสอบเอ็มบริโอรวม 400 ตัวด้วยเดลตาเมทรินเกรดการค้า เทียบเท่าเดลตาเมทรินความเข้มข้น 0.023 ไมโครกรัม/ลิตร (1/1000 ของ LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง) และกลุ่มควบคุมทดสอบด้วยน้ำกรอง รวม 2 ซ้ำ บรรจุเอ็มบริโอ 100 ตัวต่อสารละลาย 5 ลิตร ต่อโหล ภายใต้ระบบกึ่งคงที่ภายใต้แสงธรรมชาติ ~12 ชั่วโมงต่อวัน ให้อาหารปลา (Okane®, Betagro Public Co., Ltd.) ขนาด 100 ไมโครเมตร จนกินพอ 1 ครั้งต่อวัน โดยเริ่มให้เมื่อปลาอายุ 5 วัน หลังปฏิสนธิเป็นต้นไป ทำความสะอาดโดยดูดสิ่งปฏิกูลและเศษอาหารที่เหลือ และแทนที่ด้วยสารละลายที่เตรียมใหม่ 80% ของปริมาตรสารละลายในโหลเพื่อรักษาคุณภาพน้ำและความเข้มข้นที่ถูกต้องภายในภาชนะเลี้ยงทุก 24 ชั่วโมง สุ่มเก็บตัวอย่างลูกปลา 20 ตัว/โหล ทุก ๆ 10 วัน และดองใส่โดยย้อมสองสีเพื่อตรวจหาความผิดปกติของกระดูกจนสิ้นสุดการทดสอบรวม 30 วัน กระดูกสันหลังของปลาหมากลายสามารถแบ่งเป็น 4 ช่วง ได้แก่ (1) ช่วงเวเบอร์ (weber region) ประกอบด้วยกระดูกสันหลัง 4 ชิ้น เชื่อมติดกันตามขวาง (2) ช่วงพรีฮีมาล (pre-haemal region) ประกอบด้วยกระดูกสันหลัง 9-11 ชิ้น (3) ช่วงฮีมาล (haemal region) ประกอบด้วยกระดูกสันหลัง 11-15 ชิ้น และ (4) ช่วงหาง (caudal region) ประกอบด้วยกระดูกสันหลัง 4 ข้อสุดท้าย (Ferreri *et al.*, 2000) (ภาพที่ 2.9) บันทึกความถี่ของรูปแบบและตำแหน่งที่เกิดความผิดปกติของกระดูกปลาหมากลายได้แก่ ความผิดปกติของการเรียงตัวของกระดูกสันหลัง (vertebral axis deviation) การแอ่น (lordosis) การค่อม (kyphosis) และเบี้ยวข้าง (scoliosis) รวมถึงบันทึกความผิดปกติที่กระดูกซี่โครงและหาง แล้ววิเคราะห์ความต่างระหว่างความถี่ของการเกิดกระดูกผิดปกติของลาร์วาปลาหมากลายที่ได้รับเดลตาเมทรินกับกลุ่มควบคุมโดยการวิเคราะห์ไคแอสควร์



ภาพที่ 2.9 ตำแหน่งบนกระดูกสันหลังและกระดูกอื่น ๆ ที่สำรวจความผิดปกติ อักษรย่อแสดงดังนี้ weber region (W), pre-haemal region (PH), haemal region (H), caudal region (C) Rib (R) และ caudal fin (CF)

### 2.3.2.2 วิธีทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายโดยให้แม่ปลาสัมผัสสารเป็นเวลา 30 วัน

แยกปลาฆ่าลายเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ใช้ทดสอบ ใช้ปลาตัวเต็มวัยรวม 80 ตัว ตัวผู้ 40 ตัวและตัวเมีย 40 ตัว และกลุ่มที่ไม่ใช้ทดสอบ ใช้ปลาตัวเต็มวัยรวม 80 ตัว ตัวผู้ 40 ตัวและตัวเมีย 40 ตัว ใช้ปลากลุ่มที่ใช้ทดสอบ ทำการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายเมื่อได้รับโดยให้แม่สัมผัสสารในตู้ปลาขนาด 6 ลิตร ใช้ปลาเพศผู้: ปลาเพศเมีย 10:10 ในสารละลาย 5 ลิตรต่อตู้ และทดสอบรวม 2 ตู้ ทดสอบ เดลตาเมทรินเกรดการค้า เทียบเท่าเดลตาเมทรินความเข้มข้น 0.64 ไมโครกรัม/ลิตร (1/10 ของ LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง) และใช้น้ำกรองในกลุ่มควบคุมทดสอบภายใต้ระบบกึ่งคงที่ แทนที่ด้วยสารละลายที่เตรียมใหม่ 80% ของปริมาตรสารละลายในตู้ปลาเพื่อรักษาคุณภาพน้ำและความเข้มข้นที่ถูกต้องภายในภาชนะเลี้ยงทุก 24 ชั่วโมง ปลากลุ่มที่ไม่ใช้ทดสอบเลี้ยงในตู้ปลาขนาด 60 ลิตร มีระบบกรองน้ำและระบบหมุนเวียนน้ำ ปลาทั้ง 2 กลุ่มให้อาหารปลา (Okane®, Betagro Public Co., Ltd.) ขนาด 1 มิลลิเมตร จนกินพอ 1 ครั้งต่อวัน ทำความสะอาดโดยดูดสิ่งปฏิกูลและเศษอาหารที่เหลือทุกวันเพื่อรักษาคุณภาพน้ำในตู้ปลา ทำการทดสอบนาน 30 วัน

เมื่อครบ 30 วันของการทดสอบ นำปลาเพศเมียจากแต่ละตู้จากกลุ่มที่ใช้ทดสอบ ผสมกับปลาเพศผู้ที่สุ่มจากกลุ่มที่ไม่ใช้ทดสอบ ในอัตราส่วน ปลาเพศเมีย (กลุ่มที่ใช้ทดสอบ): ปลาเพศผู้ (กลุ่มที่ไม่ใช้ทดสอบ) 10:10 บันทึกจำนวนไข่ทั้งหมด จำนวนไข่ที่ปฏิสนธิ จำนวนไข่ที่ไม่ปฏิสนธิ เพื่อคำนวณความตกไข่ (fecundity) และร้อยละของการปฏิสนธิ (% fertilization) สุ่มเอ็มบริโอระยะ 3 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ จากแต่ละกลุ่มทดสอบมากลุ่มละ 100 ตัว รวม 400 ตัว ย้ายเอ็มบริโอสู่ขวดแก้วขนาด 10 มิลลิลิตรซึ่งภายในบรรจุน้ำกรองปริมาตร 3 มิลลิลิตร 1 เอ็มบริโอ/ขวด เลี้ยงในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน บันทึกการตายและความผิดปกติทุก ๆ 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 7 วัน สุ่มเอ็มบริโอที่ยังรอดชีวิตกลุ่มละ 60 ตัว มาดองสองใสโดยย้อมเอ็มบริโอ 30 ตัวจากแต่ละความเข้มข้นแบบสองสีเพื่อศึกษาการพัฒนาของกะโหลกศีรษะและย้อมเอ็มบริโอ 30 ตัวที่เหลือด้วยสีอะลิซารินเรด เพียงสีเดียวเพื่อศึกษาการเกิดกระดูกแข็ง และตรวจสอบความผิดปกติของกระดูก บันทึกความถี่ของการผิดปกติของกระดูกอ่อน ขนาดกะโหลกศีรษะ และความถี่ของการเกิดกระดูกแข็ง ดังได้กล่าวแล้วในวิธีการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง 7 วันของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายเมื่อได้รับโดยตรง วิเคราะห์ความต่างระหว่าง ความถี่ของการเกิดความผิดปกติ ความถี่ของการเกิดกระดูกอ่อนผิดปกติ ความถี่ของการเกิดกระดูกแข็ง ของเอ็มบริโอปลาฆ่าลายที่ได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุม โดยการวิเคราะห์ไคแอสควาร์ วิเคราะห์ความแตกต่างของขนาดของกะโหลกศีรษะปลาฆ่าลายที่ได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุม โดยทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของประชากรสองกลุ่ม (Independent-samples T test)

## 2.4 การดองสีโดยไม่ใช้กรด

โดยทั่วไป การย้อมกระดูกอ่อนจะทำโดยย้อมด้วยสีอัลเซียนบลู (alcian blue) ในภาวะเป็นกรดเพื่อช่วยให้ติดสีเฉพาะเจาะจงที่กระดูกอ่อนเท่านั้น แต่ในกรณีที่ต้องการย้อมทั้ง 2 สีในคราวเดียวกัน การย้อมในภาวะที่เป็นกรดอาจเกิดการสลายของแคลเซียมออกจากตัวอย่างได้ ทำให้ไม่สามารถย้อมติดสีอะลิซารินเรดในภายหลัง การย้อมสองสีโดยไม่ใช้กรดจึงถูกคิดค้นขึ้นโดยใช้แมกนีเซียมคลอไรด์ ( $MgCl_2$ ) ช่วยในการทำให้ติดสีเฉพาะเจาะจงต่อกระดูกอ่อน (Walker and Kimmel, 2007) ในงานวิจัยนี้ กระดูกอ่อนย้อมถูกย้อมด้วยสีอัลเซียนบลู 0.02% ในแมกนีเซียมคลอไรด์ ( $MgCl_2$ ) 60 มิลลิโมลาร์และเอทานอล 70% กระดูกแข็งถูกย้อมด้วยอะลิซารินเรด 0.001% ในโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 2% โดยการดองสีประกอบด้วยขั้นตอนย่อย 5 ขั้นตอนดังนี้

1) การคงสภาพเนื้อเยื่อ คงสภาพเอ็มบริโอปลาฆ่าลายในฟอร์มาลินในบัฟเฟอร์ที่เป็นกลาง เป็นเวลา 1 คืน แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น ตามด้วยการค่อย ๆ ดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ โดยแช่ตัวอย่างในเอทานอลความเข้มข้น 30% 50% และ 70% ขั้นตอนละ 10 นาที ตามลำดับ

2) การย้อมสี หลังจากแช่ด้วยเอทานอล 70% นาน 10 นาที เทเอทานอลออก แช่ปลาฆ่าลายในสารละลายอัลเซียนบลู 0.02% ในแมกนีเซียมคลอไรด์ 60 มิลลิโมลาร์และเอทานอล 70% เป็นเวลา 1 คืนตามด้วยการค่อย ๆ เติมน้ำเข้าสู่เนื้อเยื่อ โดยแช่ตัวอย่างในเอทานอล 70% 50% และ 30% ขั้นตอนละ 10 นาที ตามลำดับ และล้างด้วยน้ำกลั่น แช่ตัวอย่างในสารละลายอะลิซารินเรด 0.001% ในโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 2% เป็นเวลา 1 คืน แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น

3) การฟอกสี ขั้นตอนนี้ทำเพื่อฟอกเอาเม็ดสีในเนื้อเยื่อปลาฆ่าลายออก สารละลายที่ใช้ฟอกเตรียมโดยการผสมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) 3% และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 2% ในอัตราส่วน 1:1 แช่ตัวอย่างในสารละลายนี้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วเทสารละลายออก

4) การทำเนื้อเยื่อให้ใส ขั้นตอนนี้ทำโดยการแช่ปลาฆ่าลายในสารละลายซึ่งเตรียมโดยการผสมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.5% และกลีเซอรอล (glycerol) ในอัตราส่วน 1:4 2:3 3:2 และ 4:1 ขั้นตอนละ 1 ชั่วโมง ตามลำดับ

5) การเก็บรักษา เก็บรักษาปลาฆ่าลายที่ผ่านการทำเนื้อเยื่อให้ใสแล้วในกลีเซอรอล 100% ที่อุณหภูมิห้อง จนกว่าจะนำไปบันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ

## 2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

จากค่าการตายสะสมในการทดสอบพิษเฉียบพลัน คำนวณค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง (ขีดความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95) โดยการวิเคราะห์โพรบิท วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าการตายสะสมระหว่างเอ็มบริโอที่ทดสอบด้วยเดลตาเมทรินเกรดการค้า และเดลตาเมทรินเกรดมาตรฐานฯ และความแตกต่างระหว่างค่าการตายสะสมระหว่างเพศผู้และเพศเมียทดสอบด้วยเดลตาเมทรินเกรดการค้า โดยการวิเคราะห์ไคแอสควร์

จากการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายโดยการสัมผัสสารโดยตรง 7 วัน วิเคราะห์ความต่างระหว่าง ความถี่ของการเกิดความผิดปกติ ความถี่ของการเกิดกระดูกอ่อนผิดปกติ ความถี่ของการเกิดกระดูกแข็ง ของเอ็มบริโอปลาฆ่าลายที่ได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุม โดยการวิเคราะห์ไคแอสควร์ วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างขนาดของกะโหลกศีรษะปลาฆ่าลายที่ได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุมด้วยการวิเคราะห์

จากการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอ-ลาร์วาปลาฆ่าลายโดยการสัมผัสสารโดยตรง 30 วัน วิเคราะห์ความต่างระหว่างความถี่ของการเกิดกระดูกผิดปกติของเอ็มบริโอ-ลาร์วาปลาฆ่าลายที่ได้รับเดลตาเมทริน กับกลุ่มควบคุมโดยการวิเคราะห์ไคแอสควร์

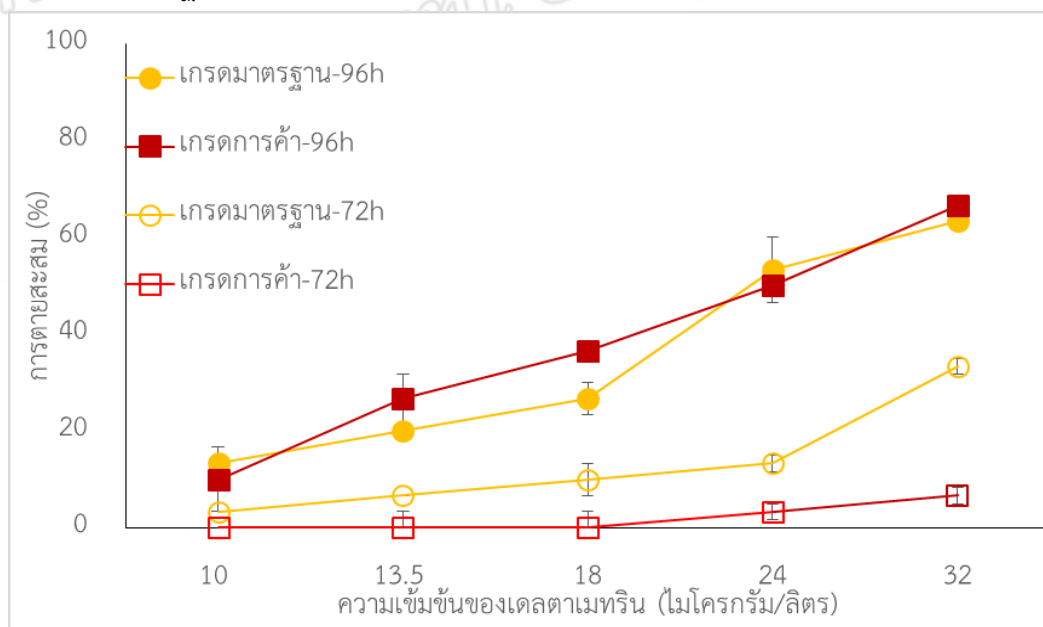
จากการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายเมื่อได้รับโดยให้แม่สัมผัสสาร วิเคราะห์ความต่างระหว่าง ความถี่ของการเกิดความผิดปกติ ความถี่ของการเกิดกระดูกอ่อนผิดปกติ ความถี่ของการเกิดกระดูกแข็ง ของเอ็มบริโอปลาฆ่าลายที่ได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุม โดยการวิเคราะห์ไคแอสควร์ วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างขนาดของกะโหลกศีรษะปลาฆ่าลายที่ได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุมโดยการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของประชากรสองกลุ่ม

### บทที่ 3 ผลการวิจัย

#### 3.1 ผลทดสอบพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินปลาฆ่าลาย

##### 3.1.1 ผลทดสอบพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย

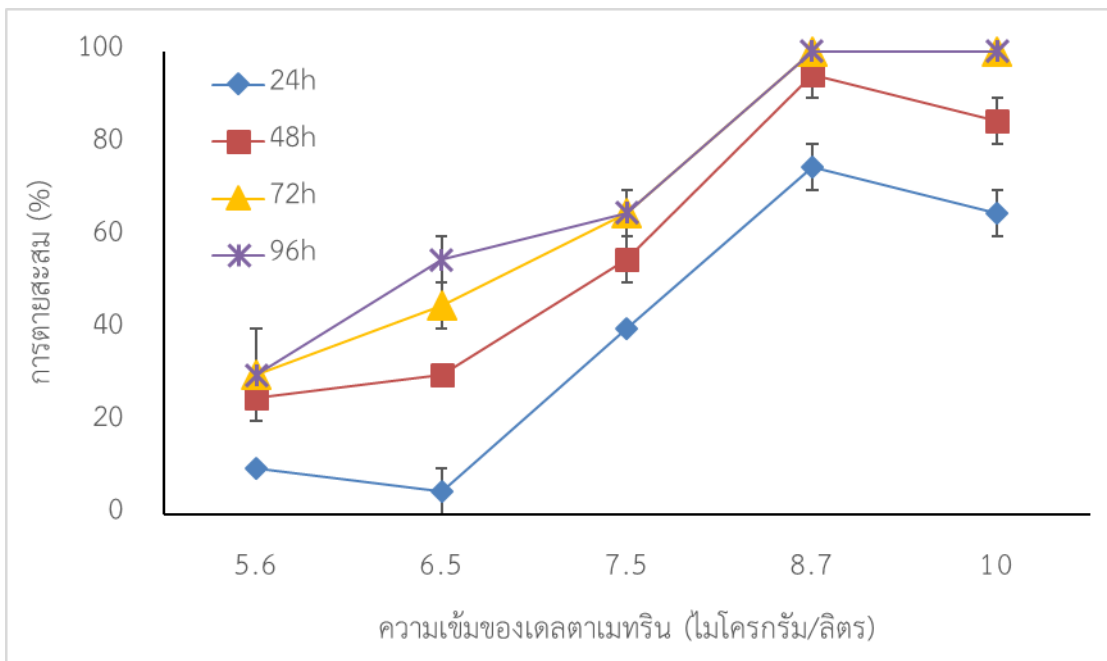
ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินทั้งเกรดมาตรฐานฯ และเดลตาเมทรินเกรดการค้าความเข้มข้น 10 13.5 18 24 และ 32 ไมโครกรัม/ลิตร บันทึกการตายสะสม ณ เวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ และคำนวณค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง (ขีดความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95) หลังจากสิ้นสุดการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย ไม่พบว่าการตายของเอ็มบริโอในกลุ่มควบคุม พบการตายในช่วง 72-96 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ ในเอ็มบริโอที่ได้รับเดลตาเมทริน โดยการตายสะสมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาและความเข้มข้นของเดลตาเมทริน (ภาพที่ 3.1) พบว่าการตายสะสมระหว่างเดลตาเมทรินเกรดมาตรฐานฯ และเดลตาเมทรินเกรดการค้ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) ค่าคำนวณค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง (ขีดความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95) ของเดลตาเมทรินเกรดมาตรฐานฯ และเดลตาเมทรินเกรดการค้าได้ 26.26 (22.78-31.50) และ 22.87 (20.00-26.81) ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ในการทดสอบนี้ไม่พบว่าการตายของเอ็มบริโอในช่วง 0-48 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ



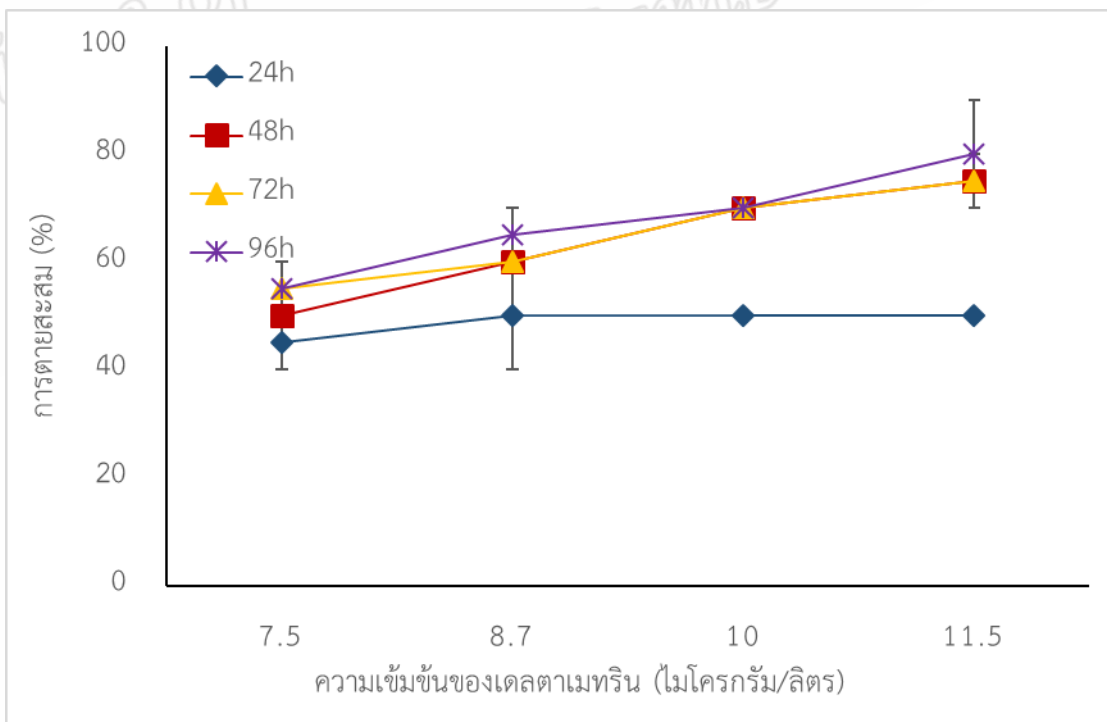
ภาพที่ 3.1 การตายสะสมของเอ็มบริโอปลาฆ่าลายเมื่อได้รับเดลตาเมทรินทั้งเดลตาเมทรินเกรดมาตรฐานฯ และเดลตาเมทรินเกรดการค้าความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ 72 และ 96 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ

### 3.1.2 ผลทดสอบพิษเฉียบพลันของเตลตามะทรินต่อปลาฆ่าลายตัวเต็มวัย

ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเตลตามะทรินเกรดการค้าต่อปลาฆ่าลายเพศผู้ด้วยความเข้มข้น 5.6 6.5 7.5 8.7 และ 10 ไมโครกรัม/ลิตร และต่อปลาฆ่าลายเพศเมียด้วยความเข้มข้น 7.5 8.7 10 และ 11.5 ไมโครกรัม/ลิตร แล้วคำนวณค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง (ขีดความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95) ผลการทดสอบพบว่าปลาในกลุ่มควบคุมมีอาการปกติตลอดการทดสอบ ไม่พบการตายในกลุ่มนี้ ปลาฆ่าลายทั้งเพศผู้และเพศเมียที่ได้รับเตลตามะทรินความเข้มข้นในช่วง 5.6-10 และ 7.5-11.5 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ แสดงอาการดังนี้ ปลามีอาการเสียการทรงตัว รูปแบบการว่ายน้ำเปลี่ยนไป ว่ายน้ำอย่างรวดเร็วและหยุดกะทันหัน พยายามกระโดดออกจากภาชนะทดสอบ โดยเริ่มแสดงอาการทันทีที่ได้รับเตลตามะทริน ปลาเพศผู้และเพศเมียหลังได้รับเตลตามะทรินความเข้มข้น 10 และ 11.5 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นอนนิ่งที่ก้นภาชนะทดสอบ โดยแผ่นปิดเหงือกยังคงขยับช้า ๆ เมื่อสำรวจการตายอีกครั้งที่ 24 ชั่วโมง ปลาที่ตายมีอาการอ้าปากค้าง สีของลำตัวซีดลง ปลาบางตัวมีอาการตกเลือดบริเวณท้อง เมื่อครบ 4 วันของการทดสอบพิษเฉียบพลันของเตลตามะทรินต่อปลาฆ่าลาย ไม่พบว่ามีอาการตายเกิดขึ้นในกลุ่มควบคุม การตายสะสมเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาของการได้รับเตลตามะทรินเพิ่มขึ้นและความเข้มข้นสูงขึ้น (ภาพที่ 3.2 และ 3.3) ค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง (ขีดความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95) ของเตลตามะทรินต่อปลาฆ่าลายเพศผู้และเพศเมียเป็น 6.4 (5.15-8.18) และ 7.40 (3.81-8.58) ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ความไวต่อเตลตามะทรินเทียบกับระยะเอ็มบริโอ พบว่าปลาตัวเต็มวัยมีความไวต่อเตลตามะทรินมากกว่าระยะเอ็มบริโอถึง 3 เท่า



ภาพที่ 3.2 การตายสะสมของปลาม้าลายเทศผู้เมื่อได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมงหลังได้รับสาร



ภาพที่ 3.3 การตายสะสมของปลาม้าลายเทศเมียเมื่อได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมงหลังได้รับสาร

### 3.2 ผลทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเตลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย

#### 3.2.1 ผลทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเตลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายโดยการสัมผัสสารโดยตรง

##### 3.2.1.1 ผลทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเตลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายโดยการสัมผัสสารโดยตรงเป็นเวลา 7 วัน

หลังทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเตลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายเมื่อได้รับโดยตรง โดยทดสอบสารละลายเตลตาเมทรินความเข้มข้น 0.023, 0.23 และ 2.3 ไมโครกรัม/ลิตร (1/1000-1/10 ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง) เป็นเวลา 7 วัน บันทึกความผิดปกติขึ้นต้นแล้วจึงดองใส ในระหว่าง 7 วันของการทดสอบไม่พบความผิดปกติในกลุ่มควบคุม ประมาณ 20% ของเอ็มบริโอที่ได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้น 2.3 ไมโครกรัม/ลิตร มีการตายเกิดขึ้นในวันที่ 7 ของการทดสอบ เริ่มพบความผิดปกติครั้งแรกที่ 72 ชั่วโมงหลังปฏิสนธิ ในกลุ่มที่ได้รับเตลตาเมทริน โดยความรุนแรงและความถี่ของการเกิดความผิดปกติเพิ่มขึ้นเมื่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นสูงขึ้น และเมื่อได้รับเป็นเวลานานขึ้น เอ็มบริโอปลาฆ่าลายที่ได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นสูงสุด 2.3 ไมโครกรัม/ลิตร แสดงอาการบวม น้ำบริเวณเยื่อหุ้มหัวใจและกล้ามเนื้อกระดูกอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้การได้รับเตลตาเมทรินยังชักนำความผิดปกติอื่น ๆ เช่น ลำตัวโค้งงอการบวม น้ำบริเวณเยื่อหุ้มไข่แดง การตกเลือด ทางผิดปกติรูป ถุงลมไม่พองออก และมีการดูดซึมไข่แดงช้า (ตารางที่ 3.1)

นอกจากความผิดปกติเบื้องต้นที่พบแล้ว หลังจากการดองใส พบว่า การได้รับเตลตาเมทรินกึ่งเรื้อรังนาน 7 วัน มีผลต่อการพัฒนาของกระดูกอ่อนอีกด้วย เอ็มบริโอปลาฆ่าลายที่ได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นสูงสุด 2.3 ไมโครกรัม/ลิตร (1/10 ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง) มีการผิดปกติของกระดูกอ่อนเมคเคล พาလာโตควอดแดรท เซอราโตไฮอัลและเซอราโตบราจเคียล สูงกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) (ภาพที่ 3.4 ตารางที่ 3.2) กระดูกอ่อนเมคเคล เป็นชิ้นที่มีการตอบสนองไวที่สุดต่อการได้รับเตลตาเมทริน ที่ความเข้มข้น 0.23 ไมโครกรัม/ลิตร (1/100 ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง) ในขณะที่ พาလာโตควอดแดรท เซอราโตไฮอัล และเซอราโตบราจเคียล มีการตอบสนองอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ต่อการได้รับเตลตาเมทรินที่ความเข้มข้นสูงสุด 2.3 ไมโครกรัม/ลิตร

หลังจากทำการวัดขนาดกะโหลกศีรษะเอ็มบริโอปลาฆ่าลายที่ได้รับเตลตาเมทรินเป็นเวลา 7 วัน ผลการวัดแสดงให้เห็นว่า การได้รับเตลตาเมทรินมีผลให้การเจริญของกระดูกอ่อนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) (ตารางที่ 3.3) เอ็มบริโอที่ได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้น 0.023-2.3 ไมโครกรัม/ลิตร (1/1000-1/10 ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง) มีความยาวตามส่วนโค้งของกระดูกอ่อนเมคเคล (ARC1) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เอ็มบริโอที่ได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้น 0.23-2.3

ไมโครกรัม/ลิตร (1/100-1/10 ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง) ความยาวกะโหลกศีรษะ (L2) ความยาวของกระดูกอ่อนเมคเคล (Meckel's cartilage) ขวา (L3) ระยะห่างระหว่างปลายด้านหน้าของกระดูกอ่อนเมคเคลและ L6 (L8) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เอ็มบริโอปลาหม้อลายที่ได้รับเดลตาเมทริน ความเข้มข้นสูงสุด 2.3 ไมโครกรัม/ลิตร (1/10 ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง) มีระยะห่างระหว่างออกซิฟิทัลดาร์ซซายและขวา (L1) ความยาวของพาลาโตควอดแดรท (L4) ความยาวของเซอราโตไฮอัล (L5) ระยะห่างระหว่างปลายด้านหลังของกระดูกอ่อนเมคเคลซ้ายและขวา (L6) ระยะห่างระหว่างเซอราโตไฮอัลซ้ายและขวา (L7) ระยะห่างระหว่างปลายด้านหน้าของกระดูกอ่อนเมคเคลและ L6 ระยะห่างระหว่างปลายด้านหน้าเซอราโตไฮอัลและ L7 (L9) ระยะห่างระหว่างแอนทีเรียร์คอมมิสเซอร์ซ้ายและขวา (L10) และระยะห่างระหว่างปลายด้านหน้าของกระดูกอ่อนเมคเคลและ L10 (L11) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ผลการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังนาน 7 วันของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาหม้อลายเมื่อได้รับโดยตรงต่อการเกิดกระดูกแข็ง พบว่า การเกิดกระดูกแข็งมีแนวโน้มลดลงเมื่อเอ็มบริโอปลาหม้อลายได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นสูงขึ้น (ภาพที่ 3.5) ที่ความเข้มข้นสูงสุด 2.3 ไมโครกรัม/ลิตร กระดูกเดนทารี เซอราโตไฮอัล บรากคิโอสติกัลป์ เรย์ ไฮโอแมนติบูลาร์และกระดูกออกซิฟิทัลดาร์ซ มีการเกิดกระดูกแข็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่การได้รับเดลตาเมทรินไม่มีผลต่อการเกิดกระดูกแข็ง พาราสฟินอยด์ โอเปอร์เคิล ออโรลิส ไคลเอททรัม และโนโตคอร์ด (ตารางที่ 3.4)

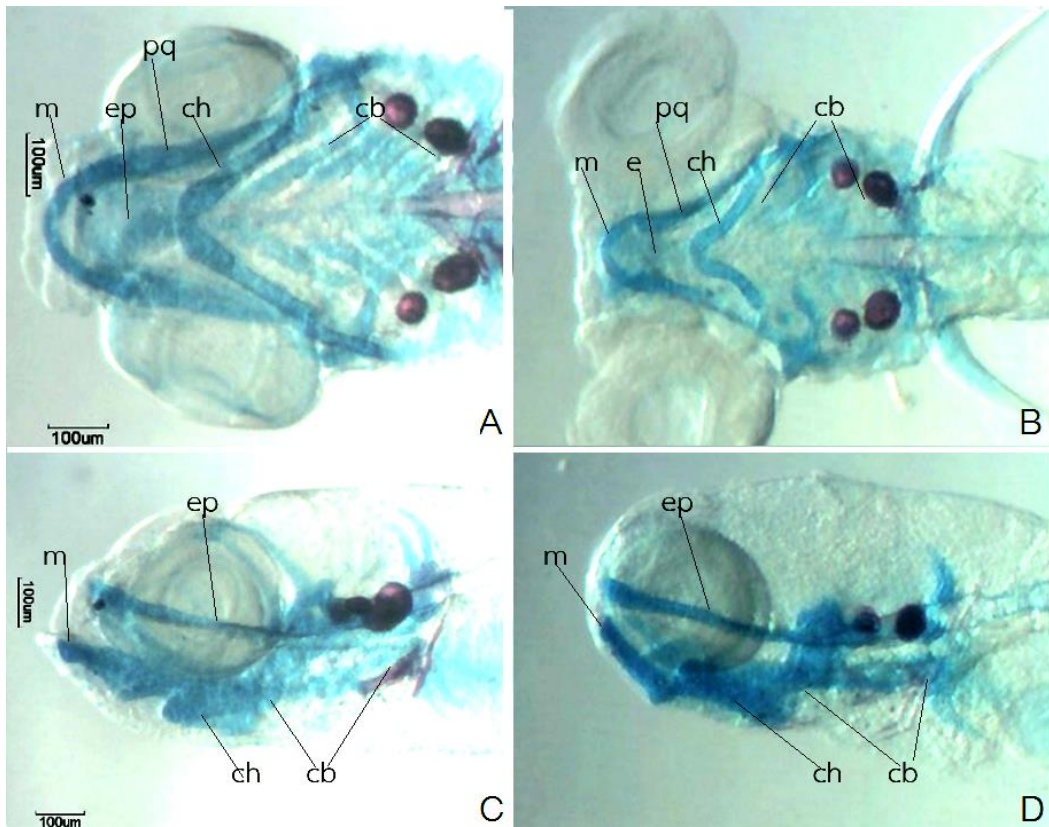
ตารางที่ 3.1 ร้อยละของการเกิดความผิดปกติของปลาแม่ลายที่ได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ โดยตรง (ค่าเฉลี่ย ( $\pm$  S.D.))

ชั่วโมงหลัง ปฏิสนธิ	อาการ	ความเข้มข้นของเดลตาเมทริน (ไมโครกรัม/ลิตร)			
		กลุ่มควบคุม	0.023	0.23	2.3
72	curve body	-	-	-	10 ( $\pm$ 9.4)
	pericardial edema	-	-	-	46.7 ( $\pm$ 9.4)*
	spasm	-	-	-	100.0 ( $\pm$ 0)*
96	curve body	-	1.7 ( $\pm$ 2.6)	6.7 ( $\pm$ 4.7)	18.3 ( $\pm$ 7.1)*
	pericardial edema	1.67 ( $\pm$ 2.4)	5 ( $\pm$ 2.6)	13.3 ( $\pm$ 9.4)	31.7 ( $\pm$ 7.1)*
	spasm	-	-	3.3 ( $\pm$ 4.7)	55.0 ( $\pm$ 25.9)*
	yolk edema	-	1.7 ( $\pm$ 2.6)	1.7 ( $\pm$ 2.4)	5 ( $\pm$ 2.4)
	hemorrhage	-	-	8.3 ( $\pm$ 2.4)	5 ( $\pm$ 7.1)
	tail deformity	-	-	-	8.3 ( $\pm$ 7.1)
	uninflated swimbladder	38.3 ( $\pm$ 7.1)	46.7 ( $\pm$ 4.7)	46.7 ( $\pm$ 4.7)	65 ( $\pm$ 21.2)
120	curve body	-	1.7 ( $\pm$ 2.4)	5 ( $\pm$ 2.4)	16.7 ( $\pm$ 14.1)
	pericardial edema	-	3.3 ( $\pm$ 4.7)	5 ( $\pm$ 2.4)	26.7 ( $\pm$ 9.4)*
	spasm	-	-	-	66.7 ( $\pm$ 0)*
	yolk edema	-	3.3 ( $\pm$ 4.7)	5 ( $\pm$ 2.4)	5 ( $\pm$ 2.4)
	hemorrhage	-	1.7 ( $\pm$ 2.4)	-	6.7 ( $\pm$ 9.4)
	tail deformity	-	-	-	10 ( $\pm$ 0)
	uninflated swimbladder	30 ( $\pm$ 0)	41.7 ( $\pm$ 2.4)	43.3 ( $\pm$ 0)	70.0 ( $\pm$ 14.1)*
	yolk resorption	-	-	-	5 (2.4)
	retardation	-	-	-	-

- ไม่พบความผิดปกติ

\*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

S.D. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างซ้ำของการทดลอง



ภาพที่ 3.4 เอ็มบริโอปลาฆ่าตายหลังได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 7 วัน หลังจากดองไข่ อักษรย่อแสดงดังนี้ ceratobranchial (cb), ceratohyal (ch), ethmoid plate (ep) และ Meckel's cartilage (m)

ตารางที่ 3.2 ร้อยละของเอ็มบริโอปลาฆ่าตายอายุ 7 วัน ที่พบการเจริญผิดปกติของกระดูกอ่อน หลังได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.D.)

กระดูกอ่อน	ความเข้มข้นของเดลตาเมทริน (ไมโครกรัม/ลิตร)			
	กลุ่มควบคุม	0.023	0.23	2.3
Meckel's cartilage	18.3 ( $\pm$ 21.2)	46.7 ( $\pm$ 4.7)	66.7 ( $\pm$ 9.4)*	85.5 ( $\pm$ 2.1)*
palatoquadrat	6.7 ( $\pm$ 9.4)	6.7 ( $\pm$ 0)	15 ( $\pm$ 11.8)	58.8 ( $\pm$ 15.2)*
ceratohyal	25 ( $\pm$ 2.4)	25 ( $\pm$ 7.1)	13.3 ( $\pm$ 9.4)	53.6 ( $\pm$ 20.4)*
ceratobranchial	10 ( $\pm$ 0)	30 ( $\pm$ 14.1)	21.7 ( $\pm$ 7.1)	52.4 ( $\pm$ 11.9)*

\*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

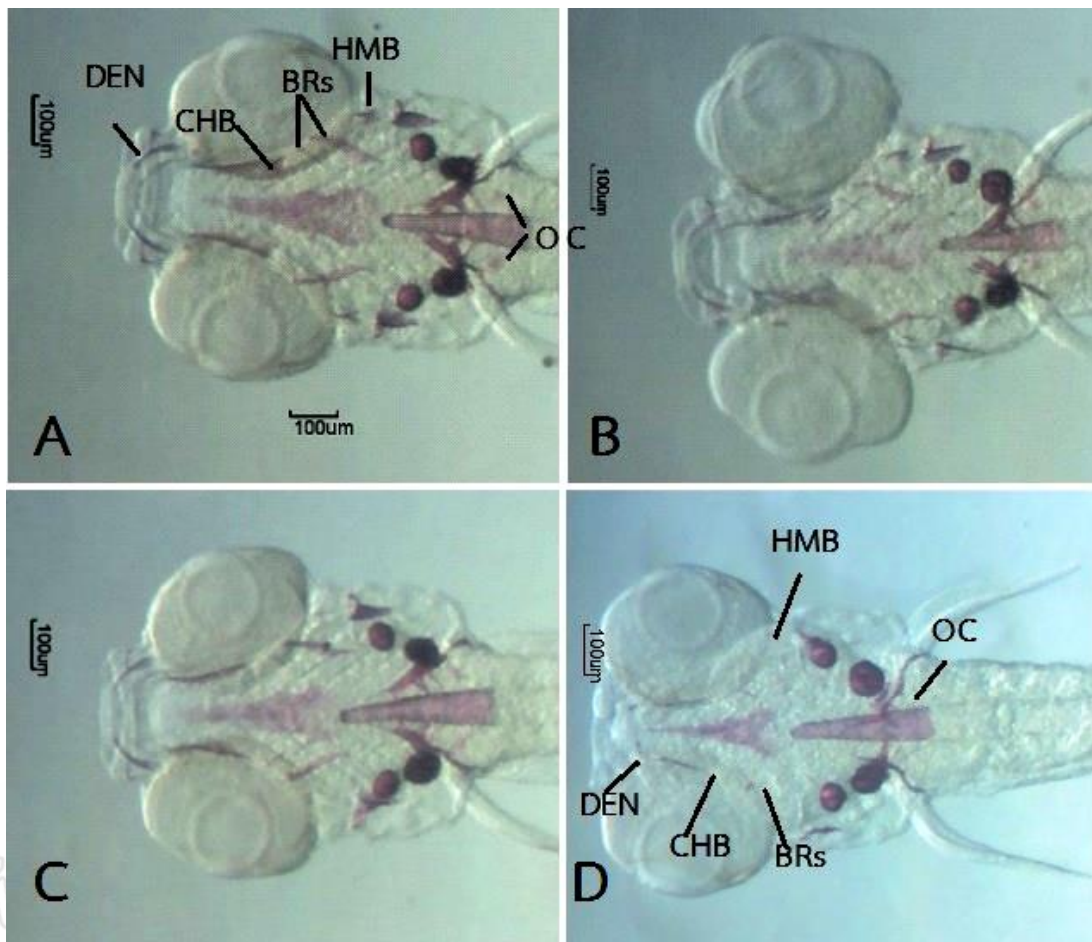
S.D. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างซ้ำของการทดลอง

ตารางที่ 3.3 ขนาดกะโหลกศีรษะของเอ็มบริโอปลาหม้าลายอายุ 7 วันหลังได้รับเตลตามะทรินโดยตรงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 7 วัน (ค่าเฉลี่ย ( $\pm$  S.D.))

ขนาดกะโหลกศีรษะ	ความเข้มข้นของเตลตามะทริน (ไมโครกรัม/ลิตร)			
	กลุ่มควบคุม	0.023	0.23	2.3
L1 (ไมโครเมตร)	401.9 ( $\pm$ 41.7) <sup>a</sup>	402.0 ( $\pm$ 30.5) <sup>a,b</sup>	405.3 ( $\pm$ 30.1) <sup>a,b</sup>	388.0 ( $\pm$ 22.1) <sup>b</sup>
L2 (ไมโครเมตร)	763.2 ( $\pm$ 78.9) <sup>a</sup>	739.7 ( $\pm$ 56.7) <sup>a,b</sup>	730.2( $\pm$ 65.9) <sup>b</sup>	670.1 ( $\pm$ 66.1) <sup>c</sup>
L3 (ไมโครเมตร)	178.2( $\pm$ 29.6) <sup>a</sup>	166.5 ( $\pm$ 22.8) <sup>a,b</sup>	159.7 ( $\pm$ 26.6) <sup>b,c</sup>	148.3 ( $\pm$ 34.2) <sup>c</sup>
L4 (ไมโครเมตร)	261.3 ( $\pm$ 36.1) <sup>a</sup>	263.1 ( $\pm$ 26.8) <sup>a</sup>	259.7 ( $\pm$ 26.7) <sup>a</sup>	237.4 ( $\pm$ 27.4) <sup>b</sup>
L5 (ไมโครเมตร)	249.7 ( $\pm$ 37.2) <sup>a</sup>	245.0 ( $\pm$ 29.9) <sup>a</sup>	241.1 ( $\pm$ 29.4) <sup>a</sup>	222.1 ( $\pm$ 35.0) <sup>b</sup>
L6 (ไมโครเมตร)	246.4 ( $\pm$ 36.9) <sup>a</sup>	247.1 ( $\pm$ 49.4) <sup>a</sup>	246.3( $\pm$ 49.6) <sup>a</sup>	210.8 ( $\pm$ 41.0) <sup>b</sup>
L7 (ไมโครเมตร)	354.4 ( $\pm$ 51.3) <sup>a</sup>	337.4 ( $\pm$ 54.5) <sup>a</sup>	347.7 ( $\pm$ 49.5) <sup>a</sup>	296.8 ( $\pm$ 48.1) <sup>b</sup>
L8 (ไมโครเมตร)	135.1 ( $\pm$ 24.4) <sup>a</sup>	131.8 ( $\pm$ 33.5) <sup>a,b</sup>	120.6 ( $\pm$ 19.8) <sup>b,c</sup>	118.0 ( $\pm$ 30.3) <sup>c</sup>
L9 (ไมโครเมตร)	199.0 ( $\pm$ 34.0) <sup>a</sup>	191.6 ( $\pm$ 27.5) <sup>a,b</sup>	190.7 ( $\pm$ 27.3) <sup>a,b</sup>	177.8 ( $\pm$ 36.5) <sup>b</sup>
L10 (ไมโครเมตร)	507.2 ( $\pm$ 55.4) <sup>a</sup>	497.7 ( $\pm$ 33.8) <sup>a</sup>	491.6 ( $\pm$ 41.7) <sup>a</sup>	471.2 ( $\pm$ 31.4) <sup>b</sup>
L11 (ไมโครเมตร)	472.8 ( $\pm$ 48.5) <sup>a</sup>	452.4 ( $\pm$ 44.0) <sup>a</sup>	450.9 ( $\pm$ 52.4) <sup>a,b</sup>	407.8 ( $\pm$ 65.6) <sup>b</sup>
ARC1 (ไมโครเมตร)	205.7 ( $\pm$ 28.7) <sup>a</sup>	184.8 ( $\pm$ 27.7) <sup>b</sup>	176.7 ( $\pm$ 30.2) <sup>b,c</sup>	168.9 ( $\pm$ 35.9) <sup>c</sup>
A1(องศา)	80.8 ( $\pm$ 11.1) <sup>a</sup>	83.0 ( $\pm$ 9.2) <sup>a</sup>	83.7 ( $\pm$ 10.0) <sup>a</sup>	82.9 ( $\pm$ 33.9) <sup>a</sup>

a, b, c แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

S.D. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างซ้ำของการทดลอง



ภาพที่ 3.5 การเกิดกระดูกแข็งของเอ็มบริโอปลาฆ่าลายที่ได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 7 วัน หลังดองไข่และย้อมด้วยอะลิซารินเรด A) กลุ่มควบคุม B) 0.023 ไมโครกรัม/ลิตร C) 0.23 ไมโครกรัม/ลิตร D) 2.3 ไมโครกรัม/ลิตร อักษรย่อแสดงดังนี้ occipital (OC), dentary (DEN), branchiostegal Rays (BRs) และ hyomandibular (HMB)

ตารางที่ 3.4 ร้อยละของเอ็มบริโอปลาฆ่าตายอายุ 7 วัน ที่พบการเกิดกระดูกแข็งขึ้นต่าง ๆ หลังได้รับเตลตาเมทรินโดยตรง (ค่าเฉลี่ย ( $\pm$  S.D.))

กระดูกแข็ง	ความเข้มข้นของเตลตาเมทริน (ไมโครกรัม/ลิตร)			
	กลุ่มควบคุม	0.023	0.23	2.3
dentary	98.3 ( $\pm$ 2.4)	91.7 ( $\pm$ 11.8)	98.3 ( $\pm$ 2.4)	78.7 ( $\pm$ 0.6)*
entopterygoid	100.0	93.3 ( $\pm$ 9.4)	100.0	85.0 ( $\pm$ 9.5)
ceratohyal bone	69.5 ( $\pm$ 22.9)	48.3 ( $\pm$ 7.1)	50.0 ( $\pm$ 4.7)	19.1 ( $\pm$ 2.4)*
parasphenoid	98.2 ( $\pm$ 2.5)	100.0	100.0	100.0
branchiostegal rays	91.3 ( $\pm$ 2.9)	68.3 ( $\pm$ 16.5)	70.0 ( $\pm$ 4.7)	44.3 ( $\pm$ 25.7)*
hyomandibular	84.8 ( $\pm$ 11.4)	70.0 ( $\pm$ 23.6)	61.7 ( $\pm$ 7.1)	18.9 ( $\pm$ 14.5)*
opercle	100.0	100.0	100.0	100.0
otoliths	100.0	100.0	100.0	100.0
5 <sup>th</sup> ceratobranchial	100.0	95.0 ( $\pm$ 7.1)	95.0 ( $\pm$ 2.4)	97.9 ( $\pm$ 2.9)
cleithrum	100.0	100.0	100.0	100.0
notochord	100.0	100.0	100.0	100.0
occipital	93.2 ( $\pm$ 4.5)	71.7 ( $\pm$ 7.1)	80.0 ( $\pm$ 14.1)	29.5 ( $\pm$ 17.2)*

\*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

S.D. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างซ้ำของการทดลอง

### 3.2.1.2 ผลทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อปลาหม้ายระยะหลังเอ็มบริโอ โดยการสัมผัสสารโดยตรงเป็นเวลา 30 วัน

ทดสอบเอ็มบริโอด้วยเดลตาเมทรินเกรดการคำนวณความเข้มข้น 0.023 ไมโครกรัม/ลิตร (1/1000 ของ LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง) แล้วสุ่มเก็บตัวอย่างลูกทุก ๆ 10 วัน และดองใสโดยย้อมสองสีเพื่อตรวจหาความผิดปกติของกระดูกจนสิ้นสุดการทดสอบรวม 30 ผลการทดสอบ พบความผิดปกติของการเรียงตัวของกระดูกสันหลัง การแอ่น การค่อม และเบี่ยงข้าง ที่ตำแหน่งพรีฮีมัลเป็นต้นไป ไม่พบในตำแหน่งเวเบอร์ (ภาพที่ 3.6) และพบการผิดปกติของกระดูกซี่โครงและซี่หางในปลาหม้ายอายุ 30 วัน แต่ไม่พบในปลาอายุ 10 และ 20 วัน (ตารางที่ 3.5) โดยพบว่าปลาที่ได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้น 0.023 ไมโครกรัม/ลิตร เป็นเวลา 30 วัน มีความถี่ของการเกิดแนวกระดูกสันหลังเบี่ยงข้างมากกว่าปลาในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

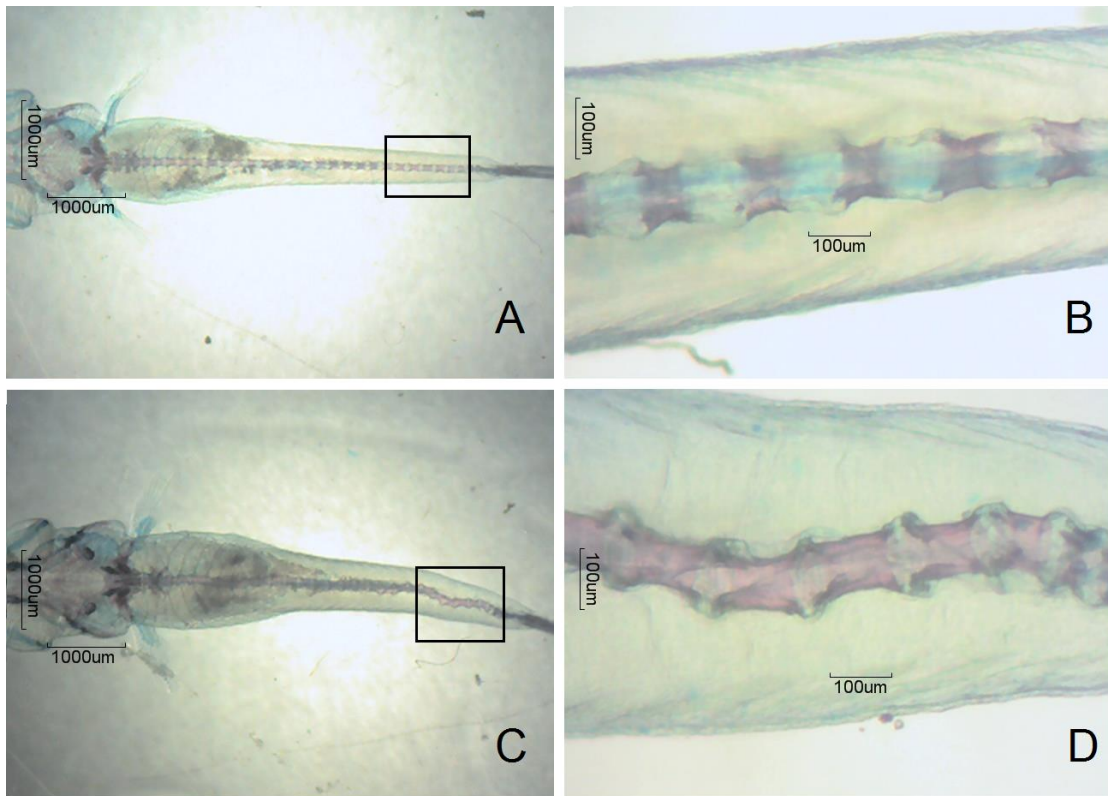
ตารางที่ 3.5 ร้อยละของปลาหม้ายอายุ 30 วัน ที่พบความผิดปกติแยกตามรูปแบบและตำแหน่งของความผิดปกติ (ค่าเฉลี่ย ( $\pm$  S.D.))

ความผิดปกติ		กลุ่มควบคุม	เดลตาเมทริน
vertebral axis deviation	lordosis	-	22.5 ( $\pm$ 17.7)
	kyphosis	2.5 ( $\pm$ 3.5)	25 ( $\pm$ 14.1)
	scoliosis	-	37.5 ( $\pm$ 17.7)*
rib-deformity	pre-haemal	2.5 ( $\pm$ 3.5)	30 ( $\pm$ 21.2)
	haemal	-	27.5 ( $\pm$ 17.7)
	caudal	-	20 ( $\pm$ 7.1)
caudal-fin-deformity		-	10 ( $\pm$ 7.1)

- ไม่พบความผิดปกติ

\*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

S.D. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างซ้ำของการทดลอง



ภาพที่ 3.6 ปลาแม่ลายอายุ 30 วันหลังดองไข่ แสดงมุมมองด้านหลัง A) แนวกระดูกสันหลังปกติ, B) ภาพขยายพื้นที่สี่เหลี่ยมของภาพ A, C) แนวกระดูกสันหลังเบี่ยงข้าง, D) ภาพขยายพื้นที่สี่เหลี่ยมของภาพ C

Princess of Siam  
Pattani Campus

### 3.2.2 ผลทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเตลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายโดยให้แม่สัมผัสสารเป็นเวลา 30 วัน

หลังจากให้แม่สัมผัสสารเตลตาเมทรินเกรดการค้า 0.64 ไมโครกรัม/ลิตร (1/10 ของ LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง) เป็นเวลานาน 30 วัน แล้วนำปลาเพศเมียที่สัมผัสสารผสมกับปลาเพศผู้ที่ไม่สัมผัสสารแล้วให้ปลาวางไข่ พบว่า ปลาในกลุ่มควบคุม และปลาที่สัมผัสสารมีความตกไข่ 84.9 (±0.6) และ 124.9 (±6.1) ตามลำดับ และมีร้อยละของการปฏิสนธิเป็น 83.8 (±0.2) และ 82.3 (±0.5) ตามลำดับ จากนั้นนำเอ็มบริโอที่ได้มาเลี้ยงในน้ำกรองเป็นเวลา 7 วัน บันทึกการตายและความผิดปกติเบื้องต้น หลังการดองใส บันทึกความถี่ของการผิดปกติของกระดูกอ่อน ขนาดกะโหลกศีรษะ และความถี่ของการเกิดกระดูกแข็ง ผลการทดสอบพบว่า หลังจากเลี้ยงเอ็มบริโอที่แม่สัมผัสสารในน้ำกรอง 7 วัน พบความผิดปกติเบื้องต้น ได้แก่ การตายสะสม รูปร่างผิดปกติ การบวมน้ำบริเวณเยื่อหุ้มหัวใจและการไม่พองออกของถุงลมสูงกว่ากลุ่มควบคุมเล็กน้อยแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) (ตารางที่ 3.6) หลังการดองใสและวัดขนาดของกะโหลกศีรษะ พบว่าเอ็มบริโอที่ได้จากแม่ปลาซึ่งได้รับเตลตาเมทรินมีความยาวกะโหลกศีรษะ (L2) ความยาวของกระดูกอ่อนเมคเคล (L3) ระยะห่างระหว่างปลายด้านหลังของกระดูกอ่อนเมคเคลซ้ายและขวา (L6) ระยะห่างระหว่างเซอราโตไฮอัลซ้ายและขวา (L7) ความยาวตามส่วนโค้งของกระดูกอ่อนเมคเคล (ARC1) น้อยกว่า และ องศาของเซอราโตไฮอัล (A1) แคบกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) (ตารางที่ 3.7) แต่ระยะห่างระหว่างปลายด้านหน้าเซอราโตไฮอัลและ L7 (L9) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่ไม่พบการผิดปกติของกระดูกอ่อนของกะโหลกศีรษะ พบว่าเอ็มบริโออายุ 7 วันหลังปฏิสนธิที่แม่สัมผัสสาร มีการลดลงเล็กน้อยของการเกิดกระดูกแข็งเดนทารี เอนทอปเทอริกอยด์ พาราสฟินอยด์ บราวคิโอสติกัล เรย์ส และกระดูกสันหลัง แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) (ตารางที่ 3.8)

ตารางที่ 3.6 ร้อยละของการเกิดความผิดปกติของเอ็มบริโอปลาแม่ลายที่ให้แม่สัมผัสสาร (ค่าเฉลี่ย ( $\pm$  S.D.))

วันหลังปฏิสนธิ	ความผิดปกติ	กลุ่มควบคุม	เดลตาเมทริน
0	fertilized egg	83.8 ( $\pm 0.2$ )	82.3 ( $\pm 0.5$ )
1	cumulative mortality	-	1.0 ( $\pm 1.4$ )
2	cumulative mortality	-	1.0 ( $\pm 1.4$ )
	body deformity	-	0.5 ( $\pm 0.7$ )
	unhatch	32.5 ( $\pm 6.4$ )	4.0 ( $\pm 1.4$ )
3	cumulative mortality	-	1.0 ( $\pm 1.4$ )
	body deformity	-	0.5 ( $\pm 0.7$ )
	pericardial edema	-	1.0 ( $\pm 1.4$ )
	hatch	100.0	99.0 ( $\pm 1.4$ )
4	cumulative mortality	-	7.0 ( $\pm 2.8$ )
	body deformity	-	0.5 ( $\pm 0.7$ )
	pericardial edema	-	10.5 ( $\pm 0.7$ )
	uninflated swimbladder	6.0 ( $\pm 4.2$ )	21.5 ( $\pm 3.5$ )
5	cumulative mortality	-	13.5 ( $\pm 2.1$ )
	body deformity	-	5.5 ( $\pm 0.7$ )
	pericardial edema	-	6.5 ( $\pm 0.7$ )
	uninflated swimbladder	-	13.0 ( $\pm 1.4$ )
6	cumulative mortality	-	13.5 ( $\pm 2.1$ )
	body deformity	-	5.5 ( $\pm 0.7$ )
	pericardial edema	-	6.5 ( $\pm 0.7$ )
	uninflated swimbladder	-	13.0 ( $\pm 1.4$ )
7	cumulative mortality	-	13.5 ( $\pm 2.1$ )
	body deformity	-	5.5 ( $\pm 0.7$ )
	pericardial edema	-	6.5 ( $\pm 0.7$ )
	uninflated swimbladder	-	13.0 ( $\pm 1.4$ )

- ไม่พบความผิดปกติ

S.D. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างซ้ำของการทดลอง

ตารางที่ 3.7 ขนาดกะโหลกศีรษะของเอ็มบริโอปลาหม้าลายอายุ 7 วันที่ให้แม่ปลาสัมผัสสาร (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.D.)

ขนาดกะโหลกศีรษะ	กลุ่มควบคุม	เดลตาเมทริน
L1 (ไมโครเมตร)	395.6 ( $\pm$ 63.2)	388.8 ( $\pm$ 83)
L2 (ไมโครเมตร)	725.4 ( $\pm$ 110.7)	677.6 ( $\pm$ 141.5)*
L3 (ไมโครเมตร)	182 ( $\pm$ 29)	164.0 ( $\pm$ 34.8)*
L4 (ไมโครเมตร)	241.1 ( $\pm$ 43)	240.9 ( $\pm$ 54.5)
L5 (ไมโครเมตร)	245 ( $\pm$ 42.8)	247. ( $\pm$ 50.6)
L6 (ไมโครเมตร)	278.7 ( $\pm$ 32.7)	245.6 ( $\pm$ 45.1)*
L7 (ไมโครเมตร)	406.9 ( $\pm$ 47.5)	327.3 ( $\pm$ 58.6)*
L8 (ไมโครเมตร)	137.2 ( $\pm$ 17.4)	138.6 ( $\pm$ 23.1)
L9 (ไมโครเมตร)	168.6 ( $\pm$ 27.7)	200.2 ( $\pm$ 44.1)*
L10 (ไมโครเมตร)	502.5 ( $\pm$ 24.3)	512.3 ( $\pm$ 38.2)
L11 (ไมโครเมตร)	477.8 ( $\pm$ 30.4)	467.8 ( $\pm$ 43)
ARC1 (ไมโครเมตร)	217 ( $\pm$ 13.5)	205.6 ( $\pm$ 21.1)*
A1 (องศา)	102.1 ( $\pm$ 10.7)	79.0 ( $\pm$ 18.9)*

\* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

S.D. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างซ้ำของการทดลอง

ตารางที่ 3.8 ร้อยละของเอ็มบริโอปลาหม้าลายอายุ 7 วัน ที่พบการเกิดกระดูกแข็งชิ้นต่าง ๆ โดยให้แม่ปลาสัมผัสสาร (ค่าเฉลี่ย  $\pm$  S.D.)

กระดูก	กลุ่มควบคุม	เดลตาเมทริน
dentary	91.5 ( $\pm$ 6.9)	63.3 ( $\pm$ 42.4)
entopterygoid	93.2 ( $\pm$ 4.5)	85.0 ( $\pm$ 11.8)
ceratohyal bone	72.4 ( $\pm$ 1.3)	83.3 ( $\pm$ 4.7)
parasphenoid	100.0	96.7 ( $\pm$ 4.7)
branchiostegal rays	94.9 ( $\pm$ 2.2)	88.3 ( $\pm$ 7.1)
hyomandibular	66.0 ( $\pm$ 17.8)	76.7 ( $\pm$ 9.4)
opercle	96.4 ( $\pm$ 5.1)	96.7 ( $\pm$ 0.0)
5 <sup>th</sup> ceratobranchial	100.0	93.3 ( $\pm$ 0.0)
cleithrum	100.0	100.0
occipital	86.3 ( $\pm$ 4.2)	91.7 ( $\pm$ 2.4)
notochord	100.0	100.0
vertebrae	79.4 ( $\pm$ 3.9)	63.3 ( $\pm$ 42.4)

S.D. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างซ้ำของการทดลอง

## บทที่ 4

### อภิปรายผล

#### 4.1 พิษเฉียบพลันของเตลตาเมทรินปลาฆ่าลาย

จากผลทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเตลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย คำนวณค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงของเตลตาเมทรินเกรดมาตรฐานฯ และเตลตาเมทรินเกรดการค้า ได้ 26.26 (22.78-31.50) และ 22.87 (20.00-26.81) ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ภายใต้ภาวะกึ่งคงที่ ความเป็นพิษของเตลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลายเทียบกับสารไพรีทรอยด์อื่น ๆ อาจกล่าวได้ว่า เตลตาเมทริน ( $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง 23 ไมโครกรัม/ลิตร) มีความเป็นพิษน้อยกว่า เฟนเวลอเรท ( $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง 2.4 ไมโครกรัม/ลิตร; Ma *et al.*, 2009) แลมตาไซฮาโลทริน ( $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง  $0.875 \pm 0.032$  ไมโครกรัม/ลิตร; Xu *et al.*, 2008) และ ไฮเปอร์เมทริน ( $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง 0.05 ไมโครกรัม/ลิตร; Sathya *et al.*, 2014) ตามลำดับ

เปรียบเทียบกับผลการศึกษาของ DeMicco *et al.* (2010) ซึ่งรายงานค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงของเตลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย 40 ไมโครกรัม/ลิตร ภายใต้ระบบคงที่ พบว่ามีค่าเกือบสองเท่าเมื่อเทียบกับค่าที่ได้จากผลทดสอบครั้งนี้ จะเห็นได้ว่าการทดสอบโดยเปลี่ยนสารละลายทุกวันมีความสำคัญต่อการรักษาความเข้มข้นให้ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก จากการเสื่อมของเตลตาเมทรินโดยแสง (photodegradation) (Hussain *et al.*, 1990) และการดูดซึมสู่ภาชนะแก้ว (Tu *et al.*, 2014)

ในการทดสอบพิษเฉียบพลันนี้ไม่พบว่า มีการตายของเอ็มบริโอในช่วง 0-48 ชั่วโมง หลังปฏิสนธิ ซึ่งเป็นระยะที่เอ็มบริโอยังไม่ฟักตัวออกจากไข่ ถึงแม้จะได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้นสูงถึง 10-32 ไมโครกรัม/ลิตร ก็ตาม ซึ่งอาจเกิดจากการมีถุงไข่ (chorion) ซึ่งมีสมบัติเป็นเยื่อเลือกผ่าน (Groot and Alderdice, 1985; Peterson and Martin-Robichaud, 1987) จึงลดการดูดซึมเตลตาเมทรินเข้าสู่ภายในไข่ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Henn *et al.* (2011) ว่าเอ็มบริโอที่ไม่มีถุงไข่มีความไวต่อสารพิษมากกว่าเอ็มบริโอที่มีถุงไข่ จะเห็นได้ว่าถุงไข่ มีความสำคัญต่อการลดการได้รับเตลตาเมทรินของเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย อย่างไรก็ตาม ถุงไข่ไม่อาจป้องกันได้อย่างสมบูรณ์ เอ็มบริโอยังคงได้รับเตลตาเมทรินจากน้ำได้ เพราะการสะสม (bioaccumulation) ไพรีทรอยด์ในร่างกายของเอ็มบริโอจะแปรผันตามความเข้มข้นและความสามารถในการควบคุมปริมาณการได้รับและกำจัดสาร (Du *et al.*, 2013) สารไพรีทรอยด์จะถูกดูดซึมสู่เอ็มบริโอปลาฆ่าลายอย่างรวดเร็วในช่วงแรก และอาจมีเพียง 36.7- 65.6% ของไพรีทรอยด์ที่สะสมเท่านั้นที่ถูกกำจัดออกจากร่างกาย (Tu *et al.*, 2014) ซึ่งอาจไม่เพียงพอต่อการรักษาชีวิตไว้ได้

ความเป็นพิษของเตลตามะทรินเกรดมาตรฐานฯ และเตลตามะทรินเกรดการค้ามีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ต่างจากผลทดสอบในหนอนแดง *C. calipterus* ซึ่งพบว่า เตลตามะทรินเกรดการค้ามีความเป็นพิษเฉียบพลันน้อยกว่าเกรดมาตรฐานฯ (Toebae and Karntanut, 2014) อาจเป็นเพราะความแตกต่างของชนิดตัวทำละลายไม่ส่งผลต่อความเป็นพิษในเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย และความเข้มข้นสูงสุดของอะซิโตนที่ใช้ในการทดสอบคือ 0.0032% ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ไม่ส่งผลต่อการตายและการเกิดความผิดปกติของเอ็มบริโอปลาฆ่าลาย (Hallare *et al.*, 2006)

จากผลการทดสอบพิษเฉียบพลันของเตลตามะทรินในปลาฆ่าลายตัวเต็มวัย คำนวณค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงของเตลตามะทรินต่อปลาฆ่าลายเพศผู้และเพศเมียเป็น 6.49 (5.15-8.18) และ 7.4 (3.81-8.58) ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับความเป็นพิษต่อแมลงน้ำและครัสตาเซียขนาดเล็ก ซึ่งมีค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงในช่วง 10-68 นาโนกรัม/ลิตร (Adam *et al.*, 2010; Beketov, 2004; Shen *et al.*, 2012) พบว่า ปลาฆ่าลายค่อนข้างทนต่อเตลตามะทริน นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับปลาชนิดอื่น ๆ ที่รวบรวมไว้ในตารางที่ 1 ค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงของปลาหลายชนิดอยู่ในช่วง 0.0019-15.47 ไมโครกรัม/ลิตร พบว่า ปลาฆ่าลายเป็นปลาที่ค่อนข้างทนต่อเตลตามะทรินเช่นกัน อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับค่า  $LD_{50}$  โดยการกินที่ทดสอบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีกซึ่งมีค่าประมาณ 31 - 5,000 และ 4,640- 10,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ (Extension Toxicology Network, 1995) ก็ยังจัดว่าเตลตามะทรินมีความเป็นพิษสูงต่อปลา ดังนั้น การใช้ปลาฆ่าลายตัวเต็มวัยทดสอบพิษเฉียบพลันเพียงอย่างเดียว อาจทำให้ประเมินความเสี่ยงของเตลตามะทรินต่อการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมต่ำกว่าที่ควรจะเป็นได้

จากการทดสอบพิษเฉียบพลันต่อปลาฆ่าลายตัวเต็มวัยยังพบอีกว่า ปลาฆ่าลายตัวเต็มวัยมีความไวต่อเตลตามะทรินมากกว่าเอ็มบริโอถึง 3 เท่า สอดคล้องกับผลการทดสอบเอ็มบริโอปลาชนิดอื่น ๆ และไฟรทรอยด์อื่น ๆ เช่นกัน ความไวต่อไฟรทรอยด์ของปลาระยะเอ็มบริโอมักน้อยกว่าปลาระยะอื่น ๆ ดังรายงานของ Köprücü and Aydın (2004) โดยพบว่าความไวต่อเตลตามะทรินของปลาคาร์พ ระยะเอ็มบริโอน้อยกว่าระยะลาร์วาถึง 3 เท่า ความไวต่อแลมดาไซฮาโทรินของปลาแซลมอนแปซิฟิก (*Onchorhynchus tshawytscha*) ระยะหลังฟักมากกว่า 33 เท่าของระยะเอ็มบริโอ (Phillips and Werner, 2005) เช่นเดียวกับปลาทอปสมเมลท์ (*Atherinops affinis*) ซึ่งระยะเอ็มบริโอสามารถอยู่รอดในเฟนเวลอเรท 3.2 พีพีบี (part per billion; ppb) ในขณะที่ 100% ของระยะหลังฟักตาย ที่เฟนเวลอเรท 0.82 พีพีบี (Goodman *et al.*, 1992) นอกจากนี้ไฟรทรอยด์แล้ว การทดสอบในสารกลุ่มอื่น ๆ เช่น โรทีโนน (rotenone) เอทานอลและอะโครเลอิน (acrolein) พบเช่นเดียวกันว่า ความไวต่อสารพิษในระยะเอ็มบริโออาจน้อยกว่าระยะตัวเต็มวัยถึง 10 เท่า (Knöbel *et al.*, 2012)

การทดสอบพิษเฉียบพลันมีประโยชน์ในการประเมินความเข้มข้นที่ทำให้สิ่งมีชีวิตตาย ดังนั้นจึงเป็นช่วงความเข้มข้นที่ค่อนข้างสูงกว่าความเข้มข้นของเดลตาเมทรินที่พบปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ซึ่งมักพบได้ในช่วงความเข้มข้น 0.001- 0.632 ไมโครกรัม/ลิตร (Elfman *et al.*, 2011; Feo *et al.*, 2010; Ge *et al.*, 2010) การใช้ผลทดสอบพิษเฉียบพลันจึงใช้อธิบายผลของเดลตาเมทรินต่อปลาในธรรมชาติได้ไม่ใกล้เคียงนัก จึงต้องมีการทดสอบพิษเรื้อรังของเดลตาเมทรินซึ่งในการทดสอบนี้ สัตว์ทดลองจะได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้นใกล้เคียงกับที่พบเดลตาเมทรินในสิ่งแวดล้อม

#### 4.2 พิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาหม้าลาย

เพื่อจำลองสิ่งอาจเกิดขึ้นจริงในสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อน ในการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรัง สัตว์ทดลองจึงถูกทดสอบด้วยด้วยเดลตาเมทรินความเข้มข้นต่ำ เช่น 1/10 1/100 หรือ 1/1000 ของค่าความเข้มข้นที่ทำให้สัตว์ทดลองชนิดนั้นตายซึ่งมีความใกล้เคียงกับความเข้มข้นของเดลตาเมทรินที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม

ผลทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาหม้าลายโดยการสัมผัสสารโดยตรงเป็นเวลา 7 วัน ไม่พบความผิดปกติในกลุ่มควบคุม เอ็มบริโอปลาหม้าลายที่ได้รับเดลตาเมทรินแสดงอาการบวม น้ำบริเวณเยื่อหุ้มหัวใจ กล้ามเนื้อกระดูก ลำตัวโค้งงอ การบวม น้ำบริเวณเยื่อหุ้มไข่แดง การตกเลือด ทางผิดปกติ ถุงลมไม่พองออก และมีการดูดซึมไข่แดงช้า เช่นเดียวกับการได้รับสารพิษอื่น ๆ ในกลุ่มไพรีทรอยด์ เอ็มบริโอปลาหม้าลายที่ได้รับ ไบเฟนทริน เฟนเวเลอเรท แลมดาไซฮาโลทริน ไซเปอร์เมทริน เพอร์เมทริน และเรสเมทริน แสดงอาการเหล่านี้เช่นกัน (DeMicco *et al.*, 2010; Jin *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2008) การเกิดลำตัวโค้งงอหลังการได้รับเดลตาเมทรินของเอ็มบริโอปลาหม้าลายไม่ใช่ผลทางสัณฐานวิทยา แต่เป็นผลทางประสาทวิทยา จากการออกฤทธิ์ของเดลตาเมทรินที่เปลี่ยนแปลงรูปร่างของช่องผ่านโซเดียม (sodium channels) ของเซลล์ประสาท (DeMicco *et al.*, 2010) อาการบวม บ่งชี้ถึงความผิดปกติของระบบหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular system) ในเอ็มบริโอปลาหม้าลายซึ่งพัฒนาในขณะที่ได้รับสารพิษ (Antkiewicz *et al.*, 2005; Kopf *et al.*, 2009) อันเป็นผลจากการไหลเวียนเลือดที่ลดลงหรือ การบีบตัวของกล้ามเนื้อหัวใจลดลง (Frayssse *et al.*, 2006)

นอกจากความผิดปกติเบื้องต้นที่พบแล้ว หลังจากการดองไข่ พบว่า การได้รับเดลตาเมทรินกึ่งเรื้อรังนาน 7 วัน มีผลให้อัตราการผิดปกติของกระดูกอ่อนเมคเคล พาลาโตควอดแดรต เซอราโตไฮอัล และเซอราโตบรานคีลเพิ่มขึ้น ซึ่งกระดูกอ่อนเมคเคลเป็นชิ้นที่มีการตอบสนองไวที่สุดต่อการได้รับเดลตาเมทริน ซึ่งสนับสนุนการค้นพบของ Strecker *et al.* (2013) ว่ากระดูกอ่อนของนิ่วโรคราเนียม เช่น เอทมอยด์ เพลท ทอบสนองต่อการได้รับสารพิษน้อยกว่ากระดูกอ่อนส่วนขากรรไกรและคอหอย เช่น กระดูกอ่อนเมคเคล

หลังจากทำการวัดขนาดกะโหลกศีรษะเอ็มบริโอปลาหม้าลายที่ได้รับเตลตาเมทรินเป็นเวลา 7 วัน ผลการวัดแสดงให้เห็นว่า การได้รับเตลตาเมทรินมีผลให้การเจริญของกระดูกอ่อนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยขนาดของกะโหลกศีรษะลดลงสัมพันธ์กับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของเตลตาเมทริน มีงานวิจัยก่อนหน้านี้เช่นกันที่แสดงว่าการได้รับสารไพรีทรอยด์บางชนิด เช่น เพอร์เมทริน และเตลตาเมทริน ทำให้การเจริญของกระดูกอ่อนบริเวณขากรรไกรล่างของเอ็มบริโอปลาหม้าลายลดลง (DeMicco *et al.*, 2010) นอกจากนี้เตลตาเมทริน ยังมีรายงานว่า การได้รับสารบางชนิดในระหว่างการเจริญของเอ็มบริโอ เช่น อะซีติก แอซิด ไฮดราไซด์ (acetic acid hydrazide) (Strecker *et al.*, 2013) 2,3,7,8-เตตระคลอโรไดเบนโซ-พี-ไดออกซิน (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin) (Hornung *et al.*, 1999 ; Teraoka *et al.*, 2002) ไตซัลฟิแรม (disulfiram) (Strecker *et al.*, 2013) เอทานอล (Carvan *et al.*, 2004) พีซีพี126 (polychlorinated biphenyl 126) (Rigaud *et al.*, 2013) ไตรบิวทิลดีน (tributyltin; Zhang *et al.*, 2012) และฟอสฟาโลน (phosalone) (Çelik *et al.*, 2012) สามารถชักนำความผิดปกติของกะโหลกศีรษะได้

ผลการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังต่อเอ็มบริโอปลาหม้าลายเมื่อได้รับเตลตาเมทรินโดยตรงนาน 7 วัน ต่อการเกิดกระดูกแข็งพบว่า การเกิดกระดูกแข็งมีแนวโน้มลดลงเมื่อได้รับเตลตาเมทริน ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น โดยปลาหม้าลายที่ได้รับเตลตาเมทรินความเข้มข้น 2.3 ไมโครกรัม/ลิตร (1/10 ของ LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง) มีความถี่ของการเกิดกระดูกแข็งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ถึงแม้ว่าการทดสอบที่ความเข้มข้น 0.23 และ 0.023 ไมโครกรัม/ลิตร (1/100 และ 1/1000 ของ LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง) จะไม่พบการลดลงของจำนวนกระดูกที่เกิดกระดูกแข็งอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตาม ระดับของการเกิดกระดูกแข็งแต่ละชั้นก็ลดลงสัมพันธ์กับความเข้มข้นของเตลตาเมทรินที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 3.5) และอาจตรวจสอบได้โดยใช้เกณฑ์การให้คะแนน (Karntanut and Pascoe, 2000) ถึงแม้ว่า ไม่พบรายงานการศึกษาผลของเตลตาเมทรินต่อการเกิดกระดูกแข็งในเอ็มบริโอปลาหม้าลายมาก่อน แต่มีรายงานว่า การได้รับเตลตาเมทรินของเอ็มบริโอไก่ส่งผลให้การเกิดกระดูกแข็งลดลงเช่นกัน (Bhaskar *et al.*, 2012-13) และการได้รับเตลตาเมทรินรบกวนสมดุลแคลเซียม โดยชักนำให้เกิดภาวะแคลเซียมต่ำ (Srivastav *et al.*, 2010) นอกจากนี้เตลตาเมทรินแล้ว การได้รับสารกลุ่มพีซีพีและพีเฟฟโอเอส (perfluorooctane sulfonate; PFOS) (Olufsen and Arukwe, 2011; Spachmo and Arukwe, 2012) ส่งผลต่อการเกิดกระดูกแข็งได้ แต่สาเหตุของการลดลงของการเกิดกระดูกแข็งในปลาหม้าลายยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม

การตอบสนองต่อเตลตาเมทรินในระยะ 7 วันแรกหลังปฏิสนธิ ต่อการพัฒนาของกะโหลกศีรษะเอ็มบริโอปลาหม้าลาย พบว่า กระดูกอ่อนมีการตอบสนองไวกว่ากระดูกแข็ง โดยเฉพาะการผิดรูปของกระดูกอ่อนเมคเคลสามารถเห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นเพียง 0.23 ไมโครกรัม/ลิตร (1/100 ของ LC<sub>50</sub> ที่ 96 ชั่วโมง) เท่านั้น แตกต่างจาก Strecker *et al.*

(2013) ซึ่งทดสอบผลของไดซัลไฟแรมและอะซีติกไฮดราไซด์ ซึ่งพบว่ากระดุกแข็งมีการตอบสนองดีกว่ากระดุกอ่อน

ถึงแม้การทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังเป็นเวลา 7 วัน จะไม่พบการผิดปกติของกระดุกอ่อนหรือการลดลงการเกิดกระดุกแข็งของเอ็มบริโอปลาหมากลายที่ได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้น 0.023 ไมโครกรัม/ลิตร (1/1000 ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง) แต่ผลการทดสอบที่ความเข้มข้นเท่ากันเป็นเวลา 30 วัน กลับพบความผิดปกติได้ โดยความผิดปกติที่ปรากฏคือการเรียงตัวของแนวกระดูกสันหลังที่เปลี่ยนไป ทำให้เกิดการแอ่น การค่อม และการเบี่ยงข้าง (ตารางที่ 3.5) โดยความถี่ของการเบี่ยงข้างในปลาที่ได้รับเดลตาเมทรินสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ให้ผลเช่นเดียวกับการได้รับสารคอปเปอร์ไพไรไทโอน (copper pyrethione) เป็นเวลา 50 วัน ของปลามัมมิคอก (*mummichog*; *Fundulus heteroclitus*) (Mochida *et al.*, 2008) จึงกล่าวได้ว่านอกจากความเข้มข้นของการได้รับเดลตาเมทรินแล้ว ระยะเวลาของการได้รับเดลตาเมทรินก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการแสดงออกของความผิดปกติได้เช่นกัน

การได้รับเดลตาเมทรินในระยะเอ็มบริโอและลาร์วานนอกจากส่งผลโดยตรงต่อการพัฒนาและการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตแล้ว ยังอาจส่งผลโดยอ้อมต่อการพัฒนาและการเจริญเติบโตได้ เพราะเดลตาเมทรินมีผลให้รูปร่างของอวัยวะที่ใช้ในการกินอาหาร เช่น กระดุกอ่อนเมคเคล (ดังพบในงานวิจัยนี้) และขากรรไกรล่าง (DeMicco *et al.*, 2010) ของปลา ทำให้มีผลต่อการกินอาหาร อาจกินอาหารได้น้อยลงและเจริญเติบโตช้าลงด้วย และการได้รับเดลตาเมทรินซึ่งส่งผลต่อโครงสร้างแกนลำตัวยังอาจส่งผลต่อพฤติกรรมกรวยน้ำ การหลบหลีกศัตรู และการล่าเหยื่อของปลา (Floyd *et al.*, 2008) ซึ่งอาจส่งผลทางอ้อมต่อความอยู่รอดของปลาได้ นอกจากนี้ในสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนสารฆ่าแมลงยังส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตที่เป็นอาหารของปลา (Kreutzweiser and Kingsbury, 1987) เมื่อสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ลดจำนวนลงทำให้แหล่งอาหารของปลาลดลงด้วยและส่งผลต่อการเจริญเติบโตของปลาได้ (Kingsbury and Kreutzweiser, 1987)

#### 4.3 พิษของเดลตาเมทรินต่อเอ็มบริโอปลาหมากลายโดยให้แม่ปลาสัมผัสสาร

ปลาเพศเมียที่สัมผัสเดลตาเมทรินความเข้มข้น 0.64 ไมโครกรัม/ลิตร (1/10 ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง) เป็นเวลา 1 เดือน มีความดกไข่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แตกต่างจากผลการทดสอบของ Sharma and Ansari (2010) และ Ansari and Ansari (2012) ที่พบว่าปลาหมากลายมีความดกไข่ลดลงหลังให้ปลาหมากลายได้รับเดลตาเมทรินความเข้มข้น 0.016 ไมโครกรัม/ลิตร เป็นเวลา 3 เดือน หรือให้ปลาหมากลายได้รับอัลฟาเมทริน (alphamethrin) ความเข้มข้น 0.02 ไมโครกรัม/ลิตร เป็นเวลา 1 เดือน ดังนั้น การได้รับไพรีทรอยด์แล้วทำให้ความดกไข่ของปลาเปลี่ยนไปเป็นประเด็นที่ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม

เอ็มบริโอที่ได้จากการผสมปลาเพศเมียที่สัมผัสเตลตามะทริกับปลาเพศผู้ที่ไม่ได้รับเตลตามะทริ แสดงความผิดปกติบางลักษณะเหมือนกับความผิดปกติที่เกิดกับเอ็มบริโอที่สัมผัสเตลตามะทริโดยตรง ได้แก่ มีความยาวกะโหลกศีรษะ (L2) ความยาวของกระดูกอ่อนเมคเคล (L3) ระยะห่างระหว่างปลายด้านหลังของกระดูกอ่อนเมคเคล (L6) ระยะห่างระหว่างเซอราโตไฮอัล (L7) ความยาวตามส่วนโค้งของกระดูกอ่อนเมคเคลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ การได้รับเตลตามะทริของแม่ปลา นอกจากจะส่งผลต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแม่ปลาแล้ว (Pullanna and Philip, 2014; Sharma and Ansari, 2010) ยังเกิดผลกระทบต่อลูกปลาอีกด้วย เตลตามะทริเป็นสารที่ละลายได้ดีในไขมันเช่นเดียวกับ เอ็นโดซัลแฟน (endosulfan) และ ทีซีดีดี (2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin; TCDD) และการได้รับสารเหล่านี้ของแม่ปลาสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติในรุ่นลูกได้ (Heiden *et al.*, 2005; Velasco-Santamaria *et al.*, 2011)

ความผิดปกติของเอ็มบริโอที่แม่ปลาสัมผัสสาร อาจเกิดจากเตลตามะทริซึ่งส่งผ่านจากแม่สู่เอ็มบริโอเช่นเดียวกับสารที่ละลายในไขมันอื่น ๆ (Bryan *et al.*, 2003; Hopkins *et al.*, 2006; Kadokami *et al.*, 2004; Miller and Amrhein, 1995, Nyholm *et al.*, 2008; Ostrach *et al.*, 2008; Peng *et al.*, 2010; Polder *et al.*, 2008; Rauschenberger *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2009) สารที่ละลายในไขมันเหล่านี้ถูกลำเลียงจากเนื้อเยื่อของแม่ปลาสู่ออโวกไซต์โดยจับกับโปรตีนวิทิลโลเจนินและสะสมในเซลล์ไข่ระหว่างกระบวนการสะสมวิทิลโลเจนิน (Monteverdi and Di Giulio, 2000a; Monteverdi and Di Giulio, 2000b) หากปริมาณที่สะสมมีความเข้มข้นมากพอ อาจส่งผลต่อการเจริญและพัฒนาของเอ็มบริโอไปจนถึงระยะแรกของช่วงชีวิตได้ (Nakayama *et al.*, 2005; Thomas and Janz, 2014; Wang *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2013)

สารฆ่าแมลงที่มีหลักฐานว่าสะสมในเนื้อเยื่อและถูกลำเลียงไปยังเซลล์ไข่ได้แก่ สารฆ่าแมลงในกลุ่มออร์แกโนคลอรีน (Kadokami *et al.*, 2004; Metcalfe *et al.*, 2000; Miller and Amrhein, 1995; Miller, 1993; Ostrach *et al.*, 2008; Rauschenberger *et al.*, 2004; Russell *et al.*, 1999) ซึ่งเป็นสารฆ่าแมลงที่ถูกห้ามใช้แล้วในหลายประเทศ มีหลักฐานว่าเตลตามะทริและไพรีทรอยด์อื่น ๆ สามารถสะสมในเนื้อเยื่อ โดยพบการสะสมมากในเนื้อเยื่อตับ สมองและรังไข่ของปลาโดยเฉพาะในช่วงฤดูวางไข่ (Corcellas *et al.*, 2015; Vengayil *et al.*, 2011) แต่กลับไม่พบรายงานการสะสมสารไพรีทรอยด์ในเซลล์ไข่ของปลา จากผลการทดลองครั้งนี้ ถึงแม้พบความผิดปกติในรุ่นลูกซึ่งแม่ปลาสัมผัสสารเตลตามะทริ แต่ยังไม่อาจยืนยันได้ว่าการสะสมของเตลตามะทริในเซลล์ไข่จากแม่ปลาจริง ซึ่งเป็นประเด็นที่ต้องมีการพิสูจน์ต่อไป

#### 4.4 การใช้ความผิดปกติของกระดูกบ่งชี้ความเป็นพิษของเตลตามะทริน

ผลการทดสอบนี้สนับสนุนแนวคิดที่ว่า ความผิดปกติของกระดูกและการปนเปื้อนของมลพิษในน้ำมีความเกี่ยวข้องกัน เช่นเดียวกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ ของโลหะหนัก (Messouadi *et al.*, 2009) และสารที่ละลายได้ดีในไขมันอื่น ๆ (Carvan *et al.*, 2004; Çelik *et al.*, 2012; DeMicco *et al.*, 2010; Hornung *et al.*, 1999; Mochida *et al.*, 2008; Olufsen and Arukwe, 2011; Rigaud *et al.*, 2013; Strecker *et al.*, 2013; Teraoka *et al.*, 2002; Tilton *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2012) การผิดรูปและการเกิดกระดูกแข็งลดลงเป็นสิ่งที่คาดหวังได้จากการทดสอบ ดังมีรายงานแล้วในหลายงานวิจัยที่ผ่านมาว่าการได้รับสารพิษเหล่านี้ทำให้รูปร่างกะโหลกศีรษะ ขากรรไกร แขนลำตัวและกระดูกสันหลังผิดปกติได้ (Carvan *et al.*, 2004; Çelik *et al.*, 2012; DeMicco *et al.*, 2010; Mochida *et al.*, 2008; Rigaud *et al.*, 2013; Strecker *et al.*, 2013; Teraoka *et al.*, 2002; Tilton *et al.*, 2006) อีกทั้งทำให้การเกิดกระดูกแข็งลดลงหรือมากผิดปกติ (Mochida *et al.*, 2008; Strecker *et al.*, 2013; Olufsen and Arukwe, 2011; Spachmo and Arukwe, 2012)

เปรียบเทียบการตรวจสอบความผิดปกติของกระดูกในการบ่งชี้การได้รับเตลตามะทรินกับการใช้ความผิดปกติเบื้องต้น พบว่าการตรวจสอบความผิดปกติเบื้องต้นตรวจสอบได้ง่ายกว่า และเห็นความผิดปกติได้ในระยะเวลาสั้นกว่า แต่วิธีนี้สามารถตรวจสอบความผิดปกติได้ดีเมื่อเอ็มบริโอปลาฆ่าตายได้รับเตลตามะทริน  $\geq 1/10$  ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงและอาจตอบได้ยากหากความเข้มข้นของเตลตามะทริน  $\leq 1/100$  ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงแต่การตรวจสอบความผิดปกติของกระดูกสามารถบ่งชี้การได้รับเตลตามะทรินได้แม้จะมีความเข้มข้นเพียง  $1/100$  ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงโดยลักษณะสำคัญที่เห็นได้ชัดคือ การวัดขนาดกะโหลกศีรษะ (ตารางที่ 3.3) และตรวจสอบความผิดปกติของกระดูกอ่อนเมคเคล (ตารางที่ 3.2) ซึ่งเป็นกระดูกอ่อนที่มีความไวต่อการได้รับสารพิษมากที่สุดที่ได้อภิปรายแล้ว

การวัดขนาดกะโหลกศีรษะซึ่งมีกระบวนการซับซ้อนกว่าแต่สามารถบ่งชี้การได้รับเตลตามะทรินได้ดีถึงแม้เอ็มบริโอปลาฆ่าตายได้รับเตลตามะทรินเพียง  $1/1000$  ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง จากผลการทดสอบพบว่า ความยาวตามส่วนโค้งของกระดูกอ่อนเมคเคล (ARC1) (ตารางที่ 3.3) สามารถบ่งชี้การได้รับเตลตามะทรินได้ ซึ่งยืนยันด้วยผลการทดสอบด้วยความเข้มข้นเดียวกัน ( $1/1000$  ของ  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง) เป็นเวลา 30 วันแล้วสามารถพบความผิดปกติของกระดูกสันหลังได้ (ตารางที่ 3.5)

การตรวจสอบความผิดปกติของแนวกระดูกสันหลังนอกจากนำมาประยุกต์ใช้ได้ดีในการบ่งชี้การได้รับสารพิษเป็นระยะเวลาสั้นในท้องปฏิบัติการแล้ว ยังใช้ได้ดีในการบ่งชี้คุณภาพน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติอีกด้วยดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 1.2 ซึ่งพบว่าปลาหลายชนิดในแหล่งน้ำที่ปนเปื้อน

สารเคมีทางการเกษตร อุตสาหกรรม และน้ำทิ้งจากบ้านเรือน การปนเปื้อนในแหล่งขุดเจาะน้ำมัน และการปนเปื้อนสารกัมมันตรังสีเกิดความผิดปกติของกระดูกสันหลังมากกว่าแหล่งอ้างอิง

นอกจากนี้ กระบวนการดองไส้ก็เป็นขั้นตอนที่ไม่ซับซ้อน สามารถเตรียมได้ง่ายและมีค่าใช้จ่ายไม่มาก ดังนั้น การใช้ความผิดปกติของกระดูกบ่งชี้การได้รับสารเดลตาเมทรินจึงเป็นหนึ่งในทางเลือกที่ดี และอาจประยุกต์ใช้กับปลาชนิดอื่น ๆ หรือการได้รับสารพิษชนิดอื่น ๆ ได้

#### 4.5 ข้อเสนอแนะ

จากรายงานพบเดลตาเมทรินเข้มข้นเฉลี่ยในแหล่งน้ำและตะกอนสูงถึง 0.029 และ 0.066 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ในเขตเกษตรกรรมของ อ.ฝาง จ. เชียงใหม่ (Pakvilai *et al.*, 2012) เมื่อเทียบกับค่า  $LC_{50}$  ที่ได้จากการทดสอบครั้งนี้ (22-26 ไมโครกรัม/ลิตร ในเอ็มบริโอและ 6.5-7.4 ไมโครกรัม/ลิตร ในตัวเต็มวัย) พบว่าเป็นการปนเปื้อนในระดับที่ทำให้มากกว่าครึ่งหนึ่งของประชากรปลาฆ่าตายได้ และจากการรวบรวมค่า  $LC_{50}$  ในตารางที่ 1 การปนเปื้อนในระดับนี้ทำให้ปลาหลายชนิดตายได้เช่นกัน หากมีการปนเปื้อนในระดับความเข้มข้นนี้ต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน เช่น มีการชะล้างเดลตาเมทรินสู่แหล่งน้ำอย่างต่อเนื่อง อาจมีผลให้ประชากรปลาในแหล่งน้ำบริเวณที่มีการปนเปื้อนลดลงหรือสูญพันธุ์ไปจากบริเวณนั้น จากผลการศึกษาทั้งพิษเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรัง จะเห็นได้ว่า เดลตาเมทรินอาจส่งผลเสียต่อความอยู่รอดและการพัฒนาของปลาได้ ดังนั้น การใช้เดลตาเมทรินรวมทั้งสารไพรีทรอยด์อื่น ๆ จึงควรใช้ด้วยความระมัดระวัง หลีกเลี่ยงการปนเปื้อนของเดลตาเมทรินสู่แหล่งน้ำ เพื่อการอยู่รอดของปลาต่าง ๆ ในธรรมชาติ การศึกษาความเป็นพิษของสารในสิ่งแวดล้อมซึ่งอาจจะสะสมในห่วงโซ่อาหาร ส่งผลต่อสุขภาพของมนุษย์ได้ เช่น โลหะหนัก (Karntanut and Pascoe, 2007) ขณะเดียวกันการศึกษผลของการสะสมเดลตาเมทรินในเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิตยังมีการศึกษาน้อย และความเป็นพิษของเดลต้าเมทรินในแหล่งน้ำอาจจะส่งผ่านไปยังห่วงโซ่อาหารหรือไม่ ควรจะมีการศึกษาต่อไป

## บทที่ 5

### สรุปผลการศึกษา

ปลาฆ่าตายเป็นปลาที่ค่อนข้างทนต่อความเป็นพิษของสารเดลตาเมทริน ( $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมงของเดลตาเมทรินต่อปลาฆ่าตายเพศผู้และเพศเมียมีค่า 6.4 และ 7.40 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ) โดยปลาระยะเอ็มบริโอมีความไวต่อการตอบสนองต่อเดลตาเมทรินน้อยกว่าระยะตัวเต็มวัย ( $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง 22.87 ไมโครกรัม/ลิตร) ถึงแม้การได้รับเดลตาเมทรินระยะสั้น (7 วัน) ที่ระดับความเข้มข้น 2.3 ไมโครกรัม/ลิตร ทำให้เอ็มบริโอปลาฆ่าตายแสดงความผิดปกติเบื้องต้น เช่นเดียวกับการได้รับไพรีทรอยด์อื่น ๆ และการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าเดลตาเมทรินทำให้เกิดความผิดปกติของกระดูก โดยทำให้เกิดกระดูกอ่อนผิดปกติ การเจริญของกะโหลกศีรษะลดลง ลดการเกิดกระดูกแข็ง นอกจากนี้การได้รับเดลตาเมทรินระยะยาว (30 วัน) ที่ความเข้มข้น 0.023 ไมโครกรัม/ลิตร ยังทำให้การเรียงตัวของแนวกระดูกสันหลังผิดปกติ และยังพบอีกว่าเอ็มบริโอที่ได้จากปลาเพศเมียที่สัมผัสเดลตาเมทริน 0.64 ไมโครกรัม/ลิตร ระยะเวลา 1 เดือน ทำให้การเจริญของกะโหลกศีรษะลดลง แต่ยังไม่อาจสรุปได้ว่าเกิดจากการสะสมของเดลตาเมทรินในเซลล์ไขกระดูก ซึ่งเป็นประเด็นที่ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

- ฐานความรู้ด้านความปลอดภัยด้านสารเคมี. 2546. หน่วยข้อเสนอเทศวัตถุอันตรายและความปลอดภัย ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. สืบค้นจาก: <http://www.chemtrack.org/Download.asp?Group=3&ID=641&FileType=.pdf> [15 พ.ค., 2558]
- Adam, O., Degiorgi, F., Crini, G. and Badot, P.M. 2010. High sensitivity of *Gammarus* sp. juveniles to deltamethrin: outcomes for risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73(6), 1402-1407.
- Åkerblom, N., Arbjörk, C., Hedlund, M. and Goedkoop, W. 2008. Deltamethrin toxicity to the midge *Chironomus riparius* Meigen-effects of exposure scenario and sediment quality. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 70(1), 53-60.
- Al-Ghanbousi, R., Ba-Omar, T. and Victor, R. 2012. Effect of deltamethrin on the gills of *Aphanius dispar*: a microscopic study. *Tissue and Cell*. 44(1), 7-14.
- Al-Sarar, A.S. 2010. Insecticide resistance of *Culex pipiens* (L.) populations (Diptera: Culicidae) from Riyadh city, Saudi Arabia: status and overcome. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 17, 95-100.
- Alaya, H.B., Galzin, R., Quignard, J.-P and Trabelsi, M. 2011. Spinal deformities in the black-striped pipefish *Syngnathus abaster* (Pisces, Syngnathidae) from the Tunis North Lake, Tunisia. *Chemosphere*. 82, 318-320.
- Alonso, M.B., Feo, M.L., Corcellas, C., Vidal, L.G., Bertozzi, C.P., Marigo, J. and Secchi, E.R. 2012. Pyrethroids: a new threat to marine mammals. *Environment International*. 47, 99-106.
- Annabi, A., Said, K. and Messaoudi, I. 2015. Monitoring and assessment of environmental disturbance on natural *Gambusia affinis* populations—histopathological analysis. *Environmental monitoring and assessment*. 187(6), 1-9.
- Ansari, S. and Ansari, B.A. 2012. Alphamethrin toxicity: effect on the reproductive ability and the activities of phosphatases in the tissues of zebrafish, *Danio rerio*. *International Journal of Life science and Pharma Research*. 2(1), 89-100.
- Antkiewicz, D.S., Burns, C.G., Carney, S.A., Peterson, R. E. and Heideman, W. 2005. Heart malformation is an early response to TCDD in embryonic zebrafish. *Toxicological Sciences*. 84(2), 368-377.

- Antonio-Nkondjio, C., Defo-Talom, B., Tagne-Fotso, R., Tene-Fossog, B., Ndo, C., Lehman, L.G., Tchuinkam, T., Kengne, P. and Awono-Ambene, P. 2012. High mosquito burden and malaria transmission in a district of the city of Douala, Cameroon. *BioMed Central Infectious Diseases*. 12, 275.
- Baumann, L., Knörr, S., Keiter, S., Nagel, T., Rehberger, K., Volz, S., Oberrauch, S., Schiller, V., Fenske, M., Holbech, H., Segner H. and Braunbeck, T. 2014. Persistence of endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*) after discontinued exposure to the androgen 17 $\beta$ -trenbolone. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 33(11), 2488-2496.
- 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(3), 200–204.
- Bhaskar, N., Shahani, L., Taparia, N. and Bhatnagar, P. 2012-13. Effect of deltamethrin containing formulation on developing chick embryo: morphological and skeletal changes. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*. 4(4) 81-87.
- Bianca, S., Volti, G.L., Caruso-Nicoletti, M., Ettore, G., Barone, P., Lupo, L. and Volti, S.L. 2003. Elevated incidence of hypospadias in two Sicilian towns where exposure to industrial and agricultural pollutants is high. *Reproductive Toxicology*. 17(5), 539-545.
- Boateng, J.O., Nunoo, F.K.E., Dankwa, H.R. and Ocran, M.H. 2006. Acute toxic effects of deltamethrin on tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *West African Journal of Applied Ecology*. 9(1). 1-5.
- Bogutskaya, N.G., Zuykov, M.A., Naseka A.M. and Anderson, E.B. 2011. Normal axial skeleton structure in common roach *Rutilus rutilus* (Actinopterygii: Cyprinidae) and malformations due to radiation contamination in the area of the Mayak (Chelyabinsk Province, Russia) nuclear plant. *Journal of Fish Biology*. 79, 991–1016.

- Bonizzoni, M., Afrane, Y., Dunn, W.A., Atieli, F.K., Zhou, G., Zhong, D., Li, J., Githeko, A., Yan, G. 2012. Comparative transcriptome analyses of deltamethrin-resistant and -susceptible *Anopheles gambiae* mosquitoes from Kenya by RNA-seq. Public Library of Science ONE. 7(9). 1-11.
- Brander, S.M., He, G., Smalling, K.L., Denison, M.S. and Cherr, G.N. 2012. The *in vivo* estrogenic and *in vitro* anti-estrogenic activity of permethrin and bifenthrin. Environmental Toxicology and Chemistry. 31(12), 2848-2855.
- Braunbeck, T. and Lammer, E. 2006. Fish embryo toxicity assays. German Federal Environment Agency. 1-298.
- Bryan, Jr.A.L., Hopkins, W.A., Baionno, J.A. and Jackson, B.P. 2003. Maternal transfer of contaminants to eggs in common grackles (*Quiscalus quiscula*) nesting on coal fly ash basins. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 45, 273-277.
- Çalta, M. and Ural, M.S. 2004. Acute toxicity of the synthetic pyrethroid deltamethrin to young mirror carp, *Cyprinus carpio*. Fresenius Environmental Bulletin. 13(11), 1179-1183.
- Canadian Council of Ministers of the Environment. 1999. Canadian water quality guidelines for the protection of aquatic life: Deltamethrin. Canadian Environmental Quality Guidelines. Winnipeg: Canadian Council of Ministers of the Environment. pp 3.
- Carvan, M.J., Loucks, E., Weber, D.N. and Williams, F.E. 2004. Ethanol effects on the developing zebrafish: neurobehavior and skeletal morphogenesis. Neurotoxicology and Teratology. 26(6), 757-768.
- Çelik, E.S., Kaya H. and Yılmaz, S. 2012. Effects of Phosalone on mineral contents and spinal deformities in common carp (*Cyprinus carpio*, L.1758). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 12, 259-264.
- Cengiz, E. I. 2006. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. Environmental Toxicology and Pharmacology. 22(2), 200-204.

- Chan, W.K. and Chan, K.M. 2012. Disruption of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in zebrafish embryo–larvae following waterborne exposure to BDE-47, TBBPA and BPA. *Aquatic Toxicology*. 108, 106-111.
- Chareonviriyaphap, T., Rongnoparut, P., Chantarumporn, P. and Bangs, M.J. 2003. Biochemical detection of pyrethroid resistance mechanisms in *Anopheles minimus* in Thailand. *Journal of Vector Ecology*. 28(1), 108-116.
- Chen, L., Yu, K., Huang, C., Yu, L., Zhu, B., Lam, P.K.S., Lam, J.C.W and Zhou, B. 2012. Prenatal transfer of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) results in developmental neurotoxicity in zebrafish larvae. *Environmental Science and Technology*. 46(17), 9727-9734.
- Christian, R.N., Strode, C., Ranson, H., Coetzer, N., Coetzee, M. and Koekemoer, L.L. 2011. Microarray analysis of a pyrethroid resistant African malaria vector, *Anopheles funestus*, from southern Africa. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 99, 140–147.
- Coe, T.S., Hamilton, P.B., Hodgson, D., Paull, G.C., Stevens, J.R., Sumner, K. and Tyler, C.R. 2008. An environmental estrogen alters reproductive hierarchies, disrupting sexual selection in group-spawning fish. *Environmental Science and Technology*. 42(13), 5020-5025.
- Corcellas, C., Eljarrat, E. and Barceló, D. 2015. First report of pyrethroid bioaccumulation in wild river fish: a case study in Iberian river basins (Spain). *Environment International*. 75, 110-116.
- Corrales, J., Thornton, C., White, M. and Willett, K.L. 2014. Multigenerational effects of benzo [a] pyrene exposure on survival and developmental deformities in zebrafish larvae. *Aquatic Toxicology*. 148, 16-26.
- Costin, D., Staicu, A.C., Dinu, D., Huculeci, R., Costache, M. and Dinischiotu, A. 2007. Biochemical and histological effects of deltamethrin exposure on the gills of *Carassius auratus gibelio* (Pisces Cyprinidae). *Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii*. 40(1), 65-72.
- Daaboub, J., Cheikh, R.B., Lamari, A., Jha, I.B., Feriani, M., Boubaker, C. and Cheikh, H.B. 2008. Resistance to pyrethroid insecticides in *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) from Tunisia. *Acta Tropica*. 107, 30–36.

- Dai, P.-L., Wang, Q., Sun, J.-H., Liu, F., Wang, X., Wu, Y.-Y. and Zhou, T. 2010. Effects of sublethal concentrations of bifenthrin and deltamethrin on fecundity, growth and development of the honeybee *Apis mellifera ligustica*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 29(3), 644–649.
- David, M. 2014a. Alterations in the levels of Ach and associated AChE in the tissues of fresh water fish *Cirrhinus mrigala* exposed to deltamethrin. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archive*. 4(6), 1237-1241.
- David, M. 2014b. Alterations in the levels of ions in tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala* exposed to deltamethrin. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archive*. 5(1), 36-40.
- David, M., Sangeetha, J., Harish, E.R., Shrinivas, J. and Naik, V.R. 2014. Deltamethrin induced alteration in  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  associated *ATPases* activity in the freshwater fish *Cirrhinus mrigala*. *International Journal of Pure and Applied Zoology*. 2(2), 175-181.
- De Knecht, J.A. and Van Herwijnen, R. 2008. Environmental Risk Limits for Deltamethrin. Bilthoven, The Netherlands: National Institute for Public Health and the Environment (RIVM). RIVM Letter report, (601716015), p.56.
- De Moraes, F.D., Venturini, F.P., Cortella, L.R.X., Rossi, P.A. and Moraes, G. 2013. Acute toxicity of pyrethroid-based insecticides in the neotropical freshwater fish *Brycon amazonicus*. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*. 8(2), 59-64.
- Delpuech, J.M., Legallet, B. and Fouillet, P. 2001. Partial compensation of the sublethal effect of deltamethrin on the sex pheromonal communication of *Trichogramma brassicae*. *Chemosphere*. 42(8), 985-991.
- DeMicco, A., Cooper, K.R., Richardson, J.R. and White, L.A. 2010. Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides in zebrafish embryos. *Toxicological Sciences*. 113(1), 177–186.
- Deng, J., Liu, C. Yu, L. and Zhou, B. 2010. Chronic exposure to environmental levels of tribromophenol impairs zebrafish reproduction. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 243, 87–95.

- Desneux, N., Denoyelle, R. and Kaiser, L. 2006. A multi-step bioassay to assess the effect of the deltamethrin on the parasitic wasp *Aphidius ervi*. *Chemosphere*. 65(10), 1697-1706.
- Devi, M.S. and Gupta, A. 2014. Sublethal toxicity of commercial formulations of deltamethrin and permethrin on selected biochemical constituents and enzyme activities in liver and muscle tissues of *Anabas testudineus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 115, 48-52.
- Diggles, B.K. 2013. Saddleback deformities in yellowfin bream, *Acanthopagrus australis* (Günther), from South East Queensland. *Journal of Fish Diseases*. 36, 521–527.
- Du, M., Lin, L., Yan, C., Wang, C. and Zhang, X. 2013. Enantiomer-specific bioaccumulation and depuration of hexabromocyclododecanes in zebrafish (*Danio Rerio*). *Journal of Hazardous Materials*. 248, 167-171.
- Dutta, S.P.S., Slathia, D., Chander, G. and Kumar, H. 2011. Anomalies in *Cirrhinus mrigala*, a commercially important freshwater food fish, from Gurdaspur district of Punjab. *The Bioscan*. 6(3), 405-411.
- Dutta, S.P.S., Slathia, D. and Katoch, V. 2013. Morphological and skeletal deformities in *Labeo Rohita* (Ham. Buch.) from fresh water fish ponds of Punjab. *International Journal of Fisheries and Aquaculture Sciences*. 3(1), 45-62.
- El-Amrani, S., Pena-Abaurrea, M., Sanz-Landaluze, J., Ramos, L., Guinea, J. and Camara, C. 2012. Bioconcentration of pesticides in zebrafish eleutheroembryos (*Danio rerio*). *Science of the Total Environment*. 425, 184-190.
- El-Amrani, S., Sanz-Landaluze, J., Guinea, J. and Camara, C. 2013. Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in zebrafish eleutheroembryos as a model for the evaluation of PAH bioconcentration. *Talanta*. 104, 67-74.
- Elfman, L., Tooke, N.E. and Patring, J.D. 2011. Detection of pesticides used in rice cultivation in streams on the island of Leyte in the Philippines. *Agricultural Water Management*. 101(1), 81-87.

- Extension Toxicology Network. 1995. A Pesticide Information Project of Cooperative Extension Offices of Cornell University, Michigan State University, Oregon State University and University of California at Davis. Available online: <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/carbaryl-diclotophos/deltamethrin-ext.html> [April 15, 2015].
- Feo, M.L., Ginebreda, A., Eljarrat, E. and Barceló, D. 2010. Presence of pyrethroid pesticides in water and sediments of Ebro River Delta. *Journal of Hydrology*. 393, 156–162.
- Ferreri, F., Nicolais, C., Boglione, C. and Bertolini, B. 2000. Skeletal characterization of wild and reared zebrafish: anomalies and meristic characters. *Journal of Fish Biology*. 56, 1115–1128.
- Floyd, E.Y., Geist, J.P. and Werner, I. 2008. Acute, sublethal exposure to a pyrethroid insecticide alters behavior, growth and predation risk in larvae of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 27(8), 1780-1787.
- Forsgren, K.L., Riar, N. and Schlenk, D. 2013. The effects of the pyrethroid insecticide, bifenthrin, on steroid hormone levels and gonadal development of steelhead (*Oncorhynchus mykiss*) under hypersaline conditions. *General and comparative endocrinology*. 186, 101-107.
- Fraysse, B., Mons, R. and Garric, J. 2006. Development of a zebrafish 4-day embryo-larval bioassay to assess toxicity of chemicals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 63(2), 253-267.
- Gan, J.J. 2006. Pyrethroid insecticides in nursery runoff: transport and impact on aquatic invertebrates. Technical Completion Reports. UC Water Resources Center Technical Completion Report. Project No. WRC Project W-968.
- Garey, J. and Wolff, M.S. 1998. Estrogenic and anti-progestagenic activities of pyrethroid insecticides. *Biochemical and biophysical research communications*. 251(3), 855-859.

- Ge, J., Cong, J., Sun, Y., Li, G., Zhou, Z., Qian, C. and Liu, F. 2010. Determination of endocrine disrupting chemicals in surface water and industrial wastewater from Beijing, China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 84(4), 401-405.
- Goodman, L.R., Hemmer, M.J., Middaugh, D.P. and Moore, J.C. 1992. Effects of fenvalerate on the early life stages of topsmelt (*Atherinops affinis*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 11, 409-414.
- Groot, E.P. and Alderdice, D.F. 1985. Fine structure of the external egg membrane of five species of Pacific salmon and steelhead trout. *Canadian Journal of Zoology*. 63(3), 552-566.
- Gutjahr-Gobell, R.E., Zaroogian, G.E., Horowitz, D.J.B., Gleason, T.R. and Mills, L.J. 2006. Individual effects of estrogens on a marine fish, cunner (*Tautoglabrus adspersus*), extrapolated to the population level. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 63(2), 244-252.
- Han, X.B., Yuen, K.W. and Wu, R.S. 2013. Polybrominated diphenyl ethers affect the reproduction and development and alter the sex ratio of zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*. 182, 120-126.
- Hallare, A., Nagel, K., Köhler, H.R. and Triebkorn, R. 2006. Comparative embryotoxicity and proteotoxicity of three carrier solvents to zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 63(3), 378-388.
- Harrill, J.A., Meacham, C.A., Shafer, T.J., Hughes, M.F. and Crofton, K.M. 2005. Time and concentration dependent accumulation of [3 H]-deltamethrin in *Xenopus laevis* oocytes. *Toxicology Letters*. 157(1), 79-88.
- Hedayati, A., Tarkhani R. and Shadi, A. 2012. Investigation of acute toxicity of two pesticides diazinon and deltamethrin, on blue gourami, *Trichogaster trichopterus* (Pallus). *Global Veterinaria*. 8(5), 440-444.
- Heiden, T.K., Hutz, R.J. and Carvan, M.J. 2005. Accumulation, tissue distribution and maternal transfer of dietary 2, 3, 7, 8,-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: impacts on reproductive success of zebrafish. *Toxicological Sciences*. 87(2), 497-507.

- Henn, K. and Braunbeck, T. 2011. Dechoriation as a tool to improve the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*). Comparative Biochemistry and Physiology Part C. 153(1), 91-98.
- Hopkins, W.A., DuRant, S.E., Staub, B.P., Rowe, C.L. and Jackson, B.P. 2006. Reproduction, embryonic development and maternal transfer of contaminants in the amphibian *Gastrophryne carolinensis*. Environmental Health Perspectives. 661-666.
- Hornung, M.W., Spitsbergen, J.M. and Peterson, R.E. 1999. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin alters cardiovascular and craniofacial development and function in sac fry of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Toxicological Sciences. 47(1), 40-51.
- Hussain, M., Perschke, H. and Kutscher, R. 1990. The effect of selected UV absorber compounds on the photodegradation of pyrethroid insecticides applied to cotton fabric screens. Pesticide Science. 28 (4), 345- 355.
- Imai, S., Koyama, J. and Fujii, K. 2005. Effects of 17 $\beta$ -estradiol on the reproduction of Java-medaka (*Oryzias javanicus*), a new test fish species. Marine Pollution Bulletin. 51(8), 708-714.
- Jabeen, F., Chaudhry, A.S., Manzoor, S. and Shaheen, T. 2015. Examining pyrethroids, carbamates and neonicotinoids in fish, water and sediments from the Indus River for potential health risks. Environmental Monitoring and Assessment. 187(2), 1-11.
- Jayaprakash, C. and Shettu, N. 2013. Changes in the hematology of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch) exposed to the toxicity of deltamethrin. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research 5(6), 178-183.
- Jin, M., Zhang, X., Wang, L., Huang, C., Zhang, Y. and Zhao, M. 2009. Developmental toxicity of bifenthrin in embryo-larval stages of zebrafish. Aquatic Toxicology, 95, 347-354.
- Jobling, S., Casey, D., Rodgers-Gray, T., Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Pawlowski, S., Baunbeck, T., Turner, A.P. and Tyler, C.R. 2003. Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. Aquatic Toxicology. 65(2), 205-220.

- Jones, C.M., Machin, C., Mohammed, K., Majambere, S., Ali, A.S., Khatib, B.O., Mcha, J., Ranson, H. and Kelly-Hope, L.A. 2012. Insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* from Zanzibar: implications for vector control programmes. *Parasites and Vectors*. 5(78).
- Kadokami, K., Takeishi, M., Kuramoto, M. and Ono, Y. 2004. Maternal transfer of organochlorine pesticides, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and coplanar polychlorinated biphenyls in frogs to their eggs. *Chemosphere*. 57, 383–389.
- Karntanut, W. and Pascoe, D. 2000. A comparison of methods for measuring acute toxicity to *Hydra vulgaris*. *Chemosphere*. 41(10), 1543-1548.
- 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, 869-880.
- Kaur, M., Atif, F., Ansari, R., A. Ahmad, F. and Raisuddin, S. 2011. The interactive effect of elevated temperature on deltamethrin-induced biochemical stress responses in *Channa punctata* Bloch. *Chemico-Biological Interactions*. 193, 216–224.
- Kessabi, K., Annabi, A., Hassine, A. I. H., Bazin, I., Mnif, W., Said, K. and Messaoudi, I. 2013. Possible chemical causes of skeletal deformities in natural populations of *Aphanius fasciatus* collected from the Tunisian coast. *Chemosphere*. 90, 2683–2689.
- Khalili, M., Khaleghi, S.R. and Hedayati, A. 2012. Acute toxicity test of two pesticides diazinon and deltamethrin, on swordtail fish (*Xiphophorus helleri*). *Global Veterinaria*. 8(5), 541-545.
- Khodadoust, D., Ismail, A., Zulkifli, S.Z. and Tayefeh, F.H. 2013. Short time effect of cadmium on juveniles and adults of Java medaka (*Oryzias javanicus*) fish as a bioindicator for ecotoxicological studies. *Life Science Journal*. 10(1), 1857-1861.
- Kim, I.Y., Shin, J.H., Kim, H.S., Lee, S.J., Kang, I.H., Kim, T.S., Moon, H.J., Choi, K.S., Moon, A. and Han, S.Y. 2004. Assessing estrogenic activity of pyrethroid insecticides using *in vitro* combination assays. *Journal of Reproduction and Development*. 50(2), 245-255.

- Kimmel, C.B., Ballard, W.W., Kimmel, S.R., Ullmann, B. and Schilling, T.F. 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. *Developmental dynamics*, 203(3), 253-310.
- Kimmel, C.B., Miller, C.T. and Moens, C.B. 2001. Specification and morphogenesis of the zebrafish larval head skeleton. *Developmental Biology*. 233(2), 239-257.
- Kingsbury, P.D. and Kreuzweiser, D.P. 1987. Permethrin treatments in Canadian forests, part 1: impact on stream fish. *Pesticide science*. 19(1), 35-48.
- Knöbel, M., Busser, F.J.M, Rico-Rico, Á., Kramer, N.I., Hermens, J.L.M., Hafner, C., Tanneberger, K., Schirmer, K. and Scholz, S. 2012. Predicting adult fish acute lethality with the zebrafish embryo: relevance of test duration, endpoints, compound properties and exposure concentration analysis. *Environmental Science and Technology*. 46(17), 9690-9700.
- Koç, N.D. Akbulut, C. Kayhan F.E. and Kaymak, G. 2012. Histological changes in testis of the swordtail fish, *Xiphophorus helleri* (Pisces: Poeciliidae) exposed to deltamethrin. *Fresenius Environmental Bulletin*. 21(10).
- Kopf, P.G. and Walker, M.K. 2009. Overview of developmental heart defects by dioxins, PCBs and pesticides. *Journal of Environmental Science and Health*. 27(4), 276-285.
- Köprücü, K. and Aydın, R. 2004. The toxic effects of pyrethroid deltamethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 80(1), 47-53.
- Köprücü, S.Ş., Köprücü, K. and Ural, M.S. 2006. Acute toxicity of the synthetic pyrethroid deltamethrin to fingerling European catfish, *Silurus glanis* L. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 76(1), 59-65.
- Kreuzweiser, D.P. and Kingsbury, P.D. 1987. Permethrin treatments in Canadian forests. Part 2: Impact on stream invertebrates. *Pesticide science*. 19(1), 49-60.
- Kuivila, K.M., Hladik, M.L., Ingersoll, C.G., Kemble, N.E., Moran, P.W., Calhoun, D.L., Nowell, L.H. and Gilliom, R.J. 2012. Occurrence and potential sources of pyrethroid insecticides in stream sediments from seven U.S. metropolitan areas. *Environmental Science and Technology*. 46, 4297-4303.

- Kumari, B., Madan, V.K. and Kathpal, T.S. 2008. Status of insecticide contamination of soil and water in Haryana, India. *Environmental Monitoring and Assessment*. 136(1-3), 239-244.
- Lemly, A.D. 2014. Teratogenic effects and monetary cost of selenium poisoning of fish in Lake Sutton, North Carolina. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 104, 160–167.
- Lee, S., Gan, J.Y. and Kabashima, J. 2002. Recovery of synthetic pyrethroids in water samples during storage and extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 7194–7198.
- Liu, Y., Wang, J., Fang, X., Zhang, H. and Dai, J. 2011. The thyroid-disrupting effects of long-term perfluorononanoate exposure on zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology*. 20(1), 47-55.
- Ma, Y., Chen, L., Lu, X., Chu, H., Xu, C. and Liu, W. 2009. Enantioselectivity in aquatic toxicity of synthetic pyrethroid insecticide fenvalerate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72(7), 1913-1918.
- McCarthy, A.R., Thomson, B.M., Shaw, I.C. and Abell, A.D. 2006. Estrogenicity of pyrethroid insecticide metabolites. *Journal of Environmental Monitoring*. 8(1), 197-202.
- McNeil, P.L., Boyle, D., Henry, T.B., Handy, R.D. and Sloman, K.A. 2014. Effects of metal nanoparticles on the lateral line system and behaviour in early life stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*. 152, 318-323.
- Meilin, A., Trisyono, Y.A., Martono E. and Buchori, D. 2012. The effects of deltamethrin applied at sublethal concentrations on the adults of *Anagrus nilaparvatae* (Hymenoptera: Mymaridae). *Asian Research Publishing Network Journal of Agricultural and Biological Science*. 7(12), 1032- 1037.
- Metcalfe, T.L., Metcalfe, C.D., Kiparissis, Y., Niimi, A.J., Foran, C.M. and Benson, W.H. 2000. Gonadal development and endocrine responses in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to o, p'-DDT in water or through maternal transfer. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 19(7), 1893-1900.

- Messaoudi, I., Kessabi, K., Kacem, A. and Said, K. 2009. Incidence of spinal deformities in natural populations of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 from the Gulf of Gabes, Tunisia. *African Journal of Ecology*. 47, 360–366.
- Miller, M.A. 1993. Maternal transfer of organochlorine compounds in salmonines to their eggs. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 50(7), 1405-1413.
- Miller, M.A. and Amrhein, J.F. 1995. Maternal transfer of organochlorine compounds in Lake Superior siscowet (*Salvelinus namaycush siscowet*) to their eggs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 55, 96-103.
- Mishra, A.K., Chand, S.K., Barik, T.K., Dua, V.K. and Raghavendra, K. 2012. Insecticide resistance status in *Anopheles culicifacies* in Madhya Pradesh, central India. *The Journal of Vector Borne Diseases*. 49, 39–41.
- Mochida, K., Ito, K., Harino, H., Onduka, T., Kakuno, A. and Fujii, K. 2008. Early life-stage toxicity test for copper pyrethione and induction of skeletal anomaly in a teleost, the mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 27(2), 367-374.
- Monteverdi, G.H. and Di Giulio, R.T. 2000a. *In vitro* and *in vivo* association of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and benzo [a] pyrene with the yolk-precursor protein vitellogenin. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 19(10), 2502-2511.
- Monteverdi, G.H. and Di Giulio, R.T. 2000b. Oocytic accumulation and tissue distribution of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and benzo [a] pyrene in gravid *Fundulus heteroclitus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 19(10), 2512-2518.
- Muir, D.C., Hobden, B.R. and Servos, M.R. 1994. Bioconcentration of pyrethroid insecticides and DDT by rainbow trout: uptake, depuration and effect of dissolved organic carbon. *Aquatic Toxicology*. 29(3), 223-240.
- Naderi, M., Wong, M.Y. and Gholami, F. 2014. Developmental exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to bisphenol-S impairs subsequent reproduction potential and hormonal balance in adults. *Aquatic Toxicology*. 148, 195-203.
- Nagel, R. 2001. DarT: The embryo test with the zebrafish *Danio rerio*- a general model in ecotoxicology and toxicology. *Altex*. 19, 38-48.

- Nakayama, K., Oshima, Y., Nagafuchi, K., Hano, T., Shimasaki, Y. and Honjo, T. 2005. Early-life-stage toxicity in offspring from exposed parent medaka, *Oryzias latipes*, to mixtures of tributyltin and polychlorinated biphenyls. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 24(3), 591-596.
- Namountougou, M., Simard, F., Baldet, T., Diabate', A., Oue'draogo, J.B., Martin, T. and Dabire', R.K. 2012. Multiple insecticide resistance in *Anopheles gambiae s.l.* populations from Burkina Faso, West Africa. *Public Library of Science ONE*. 7(11).
- Nath, P., Kumaril, B., Yadav, P.R. and Kathpal, S.T. 2005. Persistence and dissipation of readymix formulations of insecticides in/on okra fruits. *Environmental Monitoring and Assessment*. 107, 173-179.
- Ndiath, M.O., Sougoufara, S., Gaye, A., Mazenot, C., Konate, L., Faye, O., Sokhna, C. and Trape, J.-F. 2012. Resistance to DDT and pyrethroids and increased *kdr* mutation frequency in *Anopheles gambiae* after the Implementation of permethrin-treated nets in Senegal. *Public Library of Science ONE*. 7(2), 1-6.
- Neeraja, S.R.K. and Giridhar, P. 2014a. Impact of deltamethrin on some aspects of carbohydrate metabolism in fresh water fish *Labeo rohita* (Hamilton). *International Journal of Advanced Research*. 2(6), 361-366.
- Neeraja, S.R.K. and Giridhar, P. 2014b. Effect of deltamethrin on some aspects of protein metabolism in fresh water fish *Labeo rohita* (Hamilton). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(7). 494-497
- Neeraja, S.R.K. and Giridhar, P. 2014c. Effect of deltamethrin on some aspects of lipid metabolism in fresh water fish *Labeo rohita* (Hamilton). *International Journal of Bioassays*. 3(06), 3044-3047.
- Nyholm, J.R., Norman, A., Norrgren, L., Haglund, P. and Andersson, P.L. 2008. Maternal transfer of brominated flame retardants in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*. 73(2), 203-208.
- Oduola, A.O., Idowu, E.T., Oyebola, M.K., Adeogun, A.O., Olojede, J.B., Otubanjo, O. A. and Awolola, T.S. 2012. Evidence of carbamate resistance in urban populations of *Anopheles gambiae s.s.* mosquitoes resistant to DDT and deltamethrin insecticides in Lagos, South-Western Nigeria. *Parasites and Vectors*. 5(116). 1-8.

- Olufsen, M. and Arukwe, A. 2011. Developmental effects related to angiogenesis and osteogenic differentiation in salmon larvae continuously exposed to dioxin-like 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (congener 77). *Aquatic Toxicology*. 105(3), 669-680.
- Ostrach, D.J., Low-Marchelli, J.M., Eder, K.J., Whiteman, S.J. and Zinkl, J.G. 2008. Maternal transfer of xenobiotics and effects on larval striped bass in the San Francisco estuary. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105(49), 19354–19359.
- Paeporn, P., Supaphathom, K., Sathantriphop, S., Mukkhun P. and Sangkitporn, S. 2005. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* in tsunami-affected areas in Thailand. *Dengue Bulletin*. 29(210). 210-213.
- 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.
- Peng, H., Wei, Q., Wan, Y., Giesy, J.P., Li, L. and Hu, J. 2010. Tissue distribution and maternal transfer of poly- and perfluorinated compounds in Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*): implications for reproductive risk. *Environmental Science and Technology*. 44, 1868–1874.
- Peterson, R.H. and Martin-Robichaud, D.J. 1987. Permeability of the isolated Atlantic salmon (*Salmo salar*) chorion to ions as estimated by diffusion potentials. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 44(9), 1635-1639.
- Phillips, J.P. and Werner, I. 2005. Acute and sublethal effects of lambda-cyhalothrin on early life stages of Chinook salmon. Poster presentation, State of the Estuary Conference, October 4-6, 2005, Oakland, CA.
- Polder, A., Venter, B., Skaare, J.U. and Bouwman, H. 2008. Polybrominated diphenyl ethers and HBCD in bird eggs of South Africa. *Chemosphere*. 73, 148–154.
- Pullanna, K. and Philip, G.H. 2014. Reproductive performance of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to deltamethrin: Fecundity, histological and hormonal end points. *Journal of Experimental and Applied Animal Sciences*. 1(2), 253-268.

- Ramirez-Romero, R., Chaufaux, J. and Pham-Del'egue, M.-H. 2005. Effects of *Cry1Ab* protoxin, deltamethrin and imidacloprid on the foraging activity and the learning performances of the honeybee *Apis mellifera*, a comparative approach. *Apidologie*. 36(4), 601-611.
- Rauschenberger, R.H., Sepu'lveda, M.S., Wiebe, J.J., Szabo, N.J. and Gross, T.S. 2004. Predicting maternal body burdens of organochlorine pesticides from eggs and evidence of maternal transfer in *Alogator mississippiensis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23(12), 2906–2915.
- Rigaud, C., Couillard, C.M., Pellerin, J., Légaré, B., Gonzalez, P. and Hodson, P.V. 2013. Relative potency of PCB126 to TCDD for sublethal embryotoxicity in the mummichog (*Fundulus heteroclitus*). *Aquatic Toxicology*. 128, 203-214.
- Román, I.S., Alonso, M.L., Bartolomé, L. and Alonso, R.M. 2012. Hollow fibre-based liquid-phase microextraction technique combined with gas chromatography–mass spectrometry for the determination of pyrethroid insecticides in water samples. *Talanta*. 100(15), 246-253.
- Russell, R.W., Gobas, F.A. and Haffner, G.D. 1999. Maternal transfer and *in ovo* exposure of organochlorines in oviparous organisms: a model and field verification. *Environmental Science and Technology*. 33(3), 416-420.
- Saber, M., Hejazi, M. J., Kamali, K. and Moharrampour, S. 2005. Lethal and sublethal effects of fenitrothion and deltamethrin residues on the egg parasitoid *Trissolcus grandis* (Hymenoptera: Scelionidae). *Journal of Economic Entomology*. 98(1), 35-40.
- Sabra, F.S. and Mehana, E.S.E.D. 2015. Pesticides toxicity in fish with particular reference to insecticides. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*. 3(01), 40-60.
- Sadeghi, A. and Hedayati, A., 2014. Investigation of acute toxicity diazinon, deltamethrin, butachlor and pretilachlor on zebra cichlid (*Cryptoheros nigrofasciatus*). *Iranian Journal of Toxicology*. 8(25), 1086- 1092.
- Sadeghi, A. and Imanpoor, M.R. 2013. Acute toxicity of two pesticides diazinon and deltamethrin on *Gambusia*. *World Journal of Zoology*. 8(3), 303-307.

- Sadeghi, A. and Imanpoor, M.R. 2015. Investigation of LC50, NOEC and LOEC of oxadiazon, deltamethrin and malathion on platy fish (*Xiphophorus maculatus*). Iranian Journal of Toxicology. 9(28), 1271-1276.
- Sakamoto, H., Sakai, E., Fumimoto, R., Yamaguchi, Y., Fukuma, Y., Nishishita, K., Okamoto, K. and Tsukuba, T. 2012. Deltamethrin inhibits osteoclast differentiation via regulation of heme oxygenase-1 and NFATc1. Toxicology in Vitro. 26(6), 817-822.
- Sathya, K., Thiripurasundari, M., Uma, A. and Srinivasan, M.R. 2014. The toxic effect of cypermethrin on zebrafish embryo- an alternative model for assessing the embryo toxicity of environmental chemicals. Indo American Journal of Pharmaceutical Research. 4(5), 2316-2322.
- Sayed, 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), 295-301.
- Scholz, S., Fischer, S., Gündel, U., Küster, E., Luckenbach, T. and Voelker, D. 2008. The zebrafish embryo model in environmental risk assessment—applications beyond acute toxicity testing. Environmental Science and Pollution Research. 15(5), 394-404.
- Sharma, A.K., Kumar, R., Kumar, S., Nagar, G., Singh, N.K., Rawat, S.S., Dhakad, M.L., Rawat, A.K.S., Ray, D.D. and Ghosh, S. 2012. Deltamethrin and cypermethrin resistance status of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* collected from six agro-climatic regions of India. Veterinary Parasitology. 188, 337–345.
- Sharma, D. and Ansari, B. 2010. Effect of the synthetic pyrethroid deltamethrin and the neem-based pesticide achool on the reproductive ability of zebrafish, *Danio rerio* (Cyprinidae). Archives of Polish Fisheries. 18(3), 157-161.
- Sharma, D.K. and Ansari, B.A. 2011. Effect of deltamethrin and a neem based pesticide achool on some biochemical parameters in tissues liver, ovary and muscle of zebrafish *Danio rerio* (Cyprinidae). Research Journal of Chemical Sciences. 1(4), 125-134.

- Sharpe, R.L., Benskin, J.P., Laarman, A.H., MacLeod, S.L., Martin, J.W., Wong, C.S. and Goss, G.G. 2010. Perfluorooctane sulfonate toxicity, isomer-specific accumulation and maternal transfer in zebrafish (*Danio rerio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 29(9), 1957-1966.
- Shen, M.F., Kumar, A., Ding, S.Y. and Grocke, S. 2012. Comparative study on the toxicity of pyrethroids,  $\alpha$ -cypermethrin and deltamethrin to *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 78, 9-13.
- Shi, Y., Shi, Y., Wang, X., Lu, Y. and Yan, S. 2007. Comparative effects of lindane and deltamethrin on mortality, growth and cellulase activity in earthworms (*Eisenia fetida*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 89, 31-38.
- Song, Y., Kai, J., Song, X., Zhang, W. and Ling, L. 2015. Long-term toxic effects of deltamethrin and fenvalerate in soil. *Journal of Hazardous Materials*. 289, 158-164.
- Spachmo, B. and Arukwe, A. 2012. Endocrine and developmental effects in Atlantic salmon (*Salmo salar*) exposed to perfluorooctane sulfonic or perfluorooctane carboxylic acids. *Aquatic Toxicology*. 108, 112-124.
- Spence, R., Gerlach, G., Lawrence, C. and Smith, C. 2008. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. *Biological Reviews*. 83(1), 13-34.
- Srivastav, A.K., Srivastava, S.K., Mishra, D. and Srivastav, S.K. 2010. Deltamethrin-induced alterations in serum calcium and prolactin cells of a freshwater teleost, *Heteropneustes fossilis*. *Toxicological and Environ Chemistry*. 92(10), 1857-1864.
- Staicu, A.C., Munteanu, M.C., Costin, D., Costache, M. and Dinischiotu, A. 2007. Histological changes in deltamethrin-induced intoxication in *Carassius auratus gibelio* (Pisces-cyprinidae). *Biotechnology in Animal Husbandry*. 23 (5-6), 619-626.
- Stalin, S.I., Kiruba, S., Das, S.S.M. 2008. A comparative study on the toxicity of a synthetic pyrethroid, deltamethrin and a neem based pesticide, azadirachtin to *Poecilia reticulata* Peters 1859 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 8, 01-05.
- Strecker, R., Weigt, S. and Braunbeck, T. 2013. Cartilage and bone malformations in the head of zebrafish (*Danio rerio*) embryos following exposure to disulfiram and acetic acid hydrazide. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 268(2), 221-231.

- Sun, P.L., Hawkins, W.E., Overstreet, R.M. and Brown-Peterson, N.J. 2009. Morphological deformities as biomarkers in fish from contaminated rivers in Taiwan. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 6, 2307-2331.
- Taylor, J.S., Thomson, B.M., Lang, C.N., Sin, F.Y.T. and Podivinsky, E. 2010. Estrogenic pyrethroid pesticides regulate expression of estrogen receptor transcripts in mouse sertoli cells differently from 17 $\beta$ -estradiol. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 73(16), 1075-1089.
- Teraoka, H., Dong, W., Ogawa, S., Tsukiyama, S., Okuhara, Y., Niiyama, M. and Hiraga, T. 2002. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxicity in the zebrafish embryo: altered regional blood flow and impaired lower jaw development. *Toxicological Sciences*. 65(2), 192-199.
- Thanispong, K., Sathantriphop, S. and Chareonviriyaphap, T. 2008. Insecticide resistance of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* in Thailand. *Journal of Pesticide Science*. 33(4), 351-356.
- Thomas, C.R., Hose, G.C., Warne, M.S.J. and Lim R.P. 2008. Effects of river water and salinity on the toxicity of deltamethrin to freshwater shrimp, Cladoceran and Fish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 55, 610-618.
- Thomas, J.K. and Janz, D.M. 2014. *In ovo* exposure to selenomethionine via maternal transfer increases developmental toxicities and impairs swim performance in F1 generation zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*. 152, 20-29.
- Tilton, F., La Du, J.K., Vue, M., Alzarban, N. and Tanguay, R.L. 2006. Dithiocarbamates have a common toxic effect on zebrafish body axis formation. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 216, 55 – 68.
- Toebae, M. and Karntanut, W. 2014. Toxicity of deltamethrin on *Chironomus calipterus* (Keiffer): effect on growth, emergence and mouthparts deformities. *Proceedings of the 40<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand*. Khon Kaen, Thailand, December 2-4, 1072-1078.
- Tomlin, C. 1994. The pesticide manual: A world compendium. In *Corporating the Agrochemicals handbook*. British Crop Protection Council and Royal Society of Chemistry. 10<sup>th</sup> ed, Thornton Heath, UK.

- Tu, W., Lu, B., Niu, L., Xu, C., Lin, C. and Liu, W. 2014. Dynamics of uptake and elimination of pyrethroid insecticides in zebrafish (*Danio rerio*) eleutheroembryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 107, 186–191.
- Ural, M.S. and Saglam, N. 2005. A study on the acute toxicity of pyrethroid deltamethrin on the fry rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 83(2), 124-131.
- Vajargah, M.F., Hossaini, S.A. and Hedayati, A. 2013a. Acute toxicity test of two pesticides diazinon and deltamethrin on spiralin (*Alburnoides bipunctatus*) larvae and fingerling. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*. 5(6), 106-110.
- Vajargah, M.F., Hossaini, S.A., Niazie, E.H.N., Hedayati, A. and Vesaghi, M.J. 2013b. Acute toxicity of two pesticides diazinon and deltamethrin on tench (*Tinca tinca*) larvae and fingerling. *International Journal of Aquatic Biology*. 1(3), 138-142.
- Van de Merwe, J.P., Chan, A.K., Lei, E.N., Yau, M.S., Lam, M.H. and Wu, R.S. 2011. Bioaccumulation and maternal transfer of PBDE 47 in the marine medaka (*Oryzias melastigma*) following dietary exposure. *Aquatic Toxicology*. 103(3), 199-204.
- Velasco-Santamaria, Y.M., Handy, R.D. and Sloman, K.A. 2011. Endosulfan affects health variables in adult zebrafish (*Danio rerio*) and induces alterations in larvae development. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*. 153(4), 372-380.
- Vengayil, D.T., Singh, J., Singh, A.L., Das V.K. and Singh, P.B. 2011. Bioaccumulation of carbamate and pyrethroid insecticides in fishes of the river Gomti at Jaunpur during breeding season. *Journal of Ecophysiology and Occupational Health*. 11, 1-8.
- Vicquelin, L., Leray-Forget, J., Peluhet, L., LeMenach, K., Deflandre, B., Anschutz, P., Etcheber, H., Morin, B., Budzinski, H. and Cachot, J. 2011. A new spiked sediment assay using embryos of the Japanese medaka specifically designed for a reliable toxicity assessment of hydrophobic chemicals. *Aquatic Toxicology*. 105, 235– 245.

- Vincze, K., Graf, K., Scheil, V., Köhler, H.R. and Triebkorn, R. 2014. Embryotoxic and proteotoxic effects of water and sediment from the Neckar River (Southern Germany) to zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environmental Sciences Europe*. 26(1), 1-13.
- Walker, M.B. and Kimmel, C.B. 2007. A two-color acid-free cartilage and bone stain for zebrafish larvae. *Biotechnic and Histochemistry*. 82(1), 23-28.
- Wang, M., Chen, J., Lin, K., Chen, Y., Hu, W., Tanguay, R.L., Huang, C. and Dong, Q. 2011. Chronic zebrafish PFOS exposure alters sex ratio and maternal related effects in F1 offspring. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 30(9), 2073-2080.
- Wang, S.Y. and Wang, G.K. 2003. Voltage-gated sodium channels as primary targets of diverse lipid-soluble neurotoxins. *Cellular Signaling*. 15(2), 151-159.
- Weijs, L., Briels, N., Adams, D.H., Lepoint, G., Das, K., Blust, R. and Covaci, A. 2015. Maternal transfer of organohalogenated compounds in sharks and stingrays. *Marine Pollution Bulletin*. 92(1-2), 59-68.
- Wen, Q., Liu, H.L., Zhu, Y.T., Zheng, X.M., Su, G.Y., Zhang, X.W., Yu, H.-X., Giesy, J.P. and Lam, M.H.W. 2015. Maternal transfer, distribution and metabolism of BDE-47 and its related hydroxylated, methoxylated analogs in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*. 120, 31-36.
- Wheelock, C.E., Miller, J.L., Miller, M.J., Phillips, B.M., Gee, S.J., Tjeerdema, R.S. and Hammock, B.D. 2005. Influence of container adsorption upon observed pyrethroid toxicity to *Ceriodaphnia dubia* and *Hyaella azteca*. *Aquatic Toxicology*. 74, 47-52.
- Wu, J.-P., Luo, X.-J., Zhang, Y., Chen, S.-J., Mai, B.-X., Guan, Y.-T. and Yang, Z.-Y. 2009. Residues of polybrominated diphenyl ethers in frogs (*Rana limnocharis*) from a contaminated site, South China: tissue distribution, biomagnification and maternal transfer. *Environmental Science and Technology*. 43(14), 5212-5217.
- Wu, S.M., Tsai, P.J., Chou, M.Y. and Wang, W.D. 2013. Effects of maternal cadmium exposure on female reproductive functions, gamete quality and offspring development in zebrafish (*Danio rerio*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 65(3), 521-536.

- Xin, B.I.N.G. and ShaoGuo, R. 2009. Determination of environmental estrogenic activity of four pyrethroid pesticides. *China Environmental Science*. 29(2), 152-156.
- Xu, C., Wang, J., Liu, W., Sheng, G. D., Tu, Y. and Ma, Y. 2008. Separation and aquatic toxicity of enantiomers of the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 27(1), 174-181.
- Yön, N.D., Akbulut, C., Abar, M., Keyhan, F.E. and Keymak, G. 2014. Histological changes in the liver of the swordtail fish, *Xiphophorus helleri* (Pisces: Poeciliidae) after exposure to deltamethrin. *European International Journal of Applied Science and Technology*. 1(3). 27-38.
- Yu, L., Lam, J.C., Guo, Y., Wu, R.S., Lam, P.K. and Zhou, B. 2011. Parental transfer of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and thyroid endocrine disruption in zebrafish. *Environmental Science and Technology*. 45(24), 10652-10659.
- Yu, L., Liu, C., Chen, Q. and Zhou, B. 2014. Endocrine disruption and reproduction impairment in zebrafish after long-term exposure to DE-71. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 33(6), 1354-1362.
- Zaera, D. and Johnsen, E. 2011. Foetal deformities in a smooth-hound shark, *Mustelus mustelus*, from an oil exploited area in Angola. *Cybiuim*. 35(3), 231-236.
- Zhang, J., Zuo, Z., Sun, P., Wang, H., Yu, A. and Wang, C. 2012. Tributyltin exposure results in craniofacial cartilage defects in rockfish (*Sebastes marmoratus*) embryos. *Marine Environmental Research*. 77, 6-11.

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล                      นีรานี บินนิมะ

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5420320501

วุฒิการศึกษา

วุฒิ

วิทยาศาสตร์บัณฑิต

ชื่อสถาบัน

ม. สงขลานครินทร์

ปีที่สำเร็จการศึกษา

2547

ทุนการศึกษา

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Binnima, N. and Karntanut, W. 2014. Toxicity of deltamethrin on zebrafish (*Danio rerio*) embryo and skeletal deformities. Proceedings of the 40<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand, Khon Kaen, Thailand, December 2-4, 1066-1071.