

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร
งบประมาณประจำปี 2555

ภาษาไทย

ส่วนที่ 1

ชื่อโครงการ การตอบสนองของดัชนีชีวภาพต่อความเป็นพิษของไส้เดือนดิน *Pheretima peguana*

ต่อไซเพอร์เมทริน

ชื่อผู้วิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปทุมพร เมืองพระ นางนงนุช เอื้อวงศ์

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุนอุดหนุนการวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555
ปีที่เสร็จ 2556

ส่วนที่ 2 บทคัดย่อ

ไซเพอร์เมทรินเป็นสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย มีระยะเวลาการตกค้างนานกว่าสารกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่น ดังนั้นหากเกษตรกรใช้สารกำจัดศัตรูพืชนี้อย่างไม่ระมัดระวังอาจส่งผลกระทบต่อเกษตรกร ผู้บริโภค สิ่งแวดล้อม และสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมาย การศึกษาการตอบสนองของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของไส้เดือนดินต่อไซเพอร์เมทรินจึงเป็นเรื่องสำคัญต่อการเฝ้าระวังปัญหามลพิษ การศึกษาครั้งนี้ทำในห้องปฏิบัติการบนกระดาดากรองไส้เดือนดิน *Pheretima peguana* ศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน และการตอบสนองของตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (micronucleus, Tail length, Olive tail moment, Neutral red retention time, Pinocytic adherence ability) ของไส้เดือนดินต่อไซเพอร์เมทรินที่ความเข้มข้นระดับ sublethal 5 ความเข้มข้น (3.5×10^{-5} , 3.5×10^{-4} , 3.5×10^{-3} , 3.5×10^{-2} และ $3.5 \times 10^{-1} \mu\text{g.cm}^{-2}$) ทำการศึกษานบนกระดาดากรอง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่า ไซเพอร์เมทรินเป็นพิษต่อไส้เดือนดิน ความเป็นพิษแบบเฉียบพลันต่อไส้เดือนดินในเวลา 48 ชั่วโมง (48h-LC₅₀) เป็น $3.5 \times 10^{-1} \mu\text{g.cm}^{-2}$ และเป็นความเข้มข้น LC₅₀ ที่ทำให้เซลล์ coleomocytes เกิด DNA single-strand breaks และ micronucleus เพิ่มขึ้นแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ความเข้มข้นต่ำกว่า LC₅₀ 10 เท่า ($3.5 \times 10^{-2} \mu\text{g.cm}^{-2}$) พบว่าทำให้คุณสมบัติการยึดเกาะและกินแบบ pinocytosis มีค่าลดลงแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และที่ความเข้มข้นต่ำกว่า LC₅₀ 100 เท่า ($3.5 \times 10^{-3} \mu\text{g.cm}^{-2}$) พบว่าทำให้ค่า neutral red retention time มีค่าลดลงแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง biomarkers กับความเข้มข้นของไซเพอร์เมทรินพบว่ามีความสัมพันธ์แบบผกผันในระดับสูงมาก ระหว่างความเข้มข้นไซเพอร์เมทรินกับ neutral red retention time และ pinocytic adherence ability ($R^2 = 0.98$; $r = -0.990$ $p\text{-value} = 0.000$)

คำสำคัญ : Cypermethrin, Comet assay, Micronucleus, Lysosomal membrane stability

ภาษาอังกฤษ

ส่วนที่ 1

Research Title Biomarkers responses of the earthworm *Pheretima peguana* to cypermethrin

Researcher Ptumporn Muangphra, Nongnuch Euawong

Office Biology Department, Faculty of Science, Silpakorn University

Research Grants Research and Development Institute, Silpakorn University, Year 2012

Year 2013

ส่วนที่ 2

Abstract

Cypermethrin is a current pesticide with long lasting or residual properties more than many other pesticides. Therefore, if cultivators are less awareness on the use of this pesticide it may be harmful to themselves, consumer, environment and non target animal. The study of biomarkers responses of the earthworm *Pheretima peguana* to cypermethrin is essential for the monitoring of environmental pollution. We studied the acute toxicity of cypermethrin to earthworm, *Pheretima peguana*. The biomarker responses (micronucleus, Tail length, Olive tail moment, Neutral red retention time, Pinocytic adherence ability) to cypermethrin were conducted at 5 sublethal concentrations (3.5×10^{-5} , 3.5×10^{-4} , 3.5×10^{-3} , 3.5×10^{-2} and 3.5×10^{-1} $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$) on filter papers for 48 h. The results showed that cypermethrin was toxic to earthworms. The acute toxicity of cypermethrin to earthworm in 48 h (48h-LC₅₀) was 3.5×10^{-1} $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$. The LC₅₀ concentration increased significantly DNA single-strand breaks and micronucleus of coelomocytes ($p < 0.05$). At concentration less than 10x LC₅₀ (3.5×10^{-2} $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$) decreased significantly the pinocytic adherence ability of coelomocytes ($p < 0.05$) and less than 100x LC₅₀ (3.5×10^{-3} $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$) decreased significantly neutral red retention time ($p < 0.05$). The correlation coefficient of biomarkers and cypermethrin concentration was highly negative between cypermethrin concentration, and neutral red retention time and pinocytotic adherence ability ($R^2 = 0.98$; $r = -0.990$ $p\text{-value} = 0.000$).

Key words : Cypermetnrin, Comet assay, Micronucleus, Lysosomal membrane stability

สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
หัวข้อ	
1. บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์การวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
ขอบเขตการวิจัย	4
การทบทวนเอกสารงานวิจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง	4
สารสังเคราะห์ไฟรีธรอยด์	5
กลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มไฟรีธรอยด์	5
ไส้เดือนดิน	5
เทคนิคที่ใช้ทดสอบ	6
2. คำสำคัญ	7
3. คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ที่ใช้ในการวิจัย	7
4. เนื้อเรื่อง	7
4.1 สมมติฐานของการทดลอง	7
4.2 วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง	8
4.2.1 การเพาะเลี้ยงไส้เดือนดิน	8
4.2.2 สารเคมีที่ใช้ทดสอบ	8
4.2.3 การทดลอง	8
4.2.3.1 การหาค่า LC_{50} ของไซเพอร์เมธรินต่อไส้เดือนดิน	8
4.2.3.2 การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายไซเพอร์เมธรินต่อ	
สารพันธุกรรมเซลล์ coelomocytes	8
4.2.3.2.1 การชักนำให้ปล่อย coelomocytes	8
4.2.3.2.2 การทดสอบด้วย Micronucleus test	9
4.2.3.2.3 การทดสอบด้วย Comet assay	9
4.2.3.3 การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายไซเพอร์เมธรินต่อ	
ความเสถียรของ Lysosomal ด้วย Neutral red retention assay	11

4.2.3.4 การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายไซเพอร์เมธรินต่อการ ยึดเกาะและการกินแบบ pinocytosis ด้วย Pinocytic adherence ability assay	12
5. ผลการทดลอง	12
5.1 ค่า LC_{50} ของไซเพอร์เมธรินต่อไส้เดือนดิน	13
5.2 การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายไซเพอร์เมธรินต่อสารพันธุกรรม เซลล์ coelomocytes ของไส้เดือนดิน <i>P. peguana</i>	13
5.2.1 การทดสอบด้วย Micronucleus test	13
5.2.2 การทดสอบด้วย Comet assay	15
5.3 การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายไซเพอร์เมธรินความเสถียร ของ Lysosomal ด้วย Neutral red retention assay	15
5.4 การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายไซเพอร์เมธรินต่อการ ยึดเกาะและการกินแบบ pinocytosis ด้วย Pinocytic adherence ability assay	16
6. วิเคราะห์ผลการทดลอง	18
7. สรุปผลการทดลอง	22
8. บรรณานุกรม	23

ตารางที่ 1 การตายสะสมของไส้เดือนดินที่ได้รับสารไซเพอร์เมธรินเป็นเวลา 48 ชั่วโมง	13
ตารางที่ 2 ผลของไซเพอร์เมธรินต่อความผิดปกติของนิวเคลียสของเซลล์ coelomocytes ของไส้เดือนดินที่ได้รับสารเป็นเวลา 48 ชั่วโมง	14
ตารางที่ 3 ผลของไซเพอร์เมธรินต่อความผิดปกติของสารพันธุกรรมของเซลล์ coelomocytes ของไส้เดือนดินที่ได้รับสารเป็นเวลา 48 ชั่วโมง	15
ตารางที่ 4 ผลของไซเพอร์เมธรินต่อ Neutral red retention time ของเซลล์ coelomocytes ของไส้เดือนดินที่ได้รับสารเป็นเวลา 48 ชั่วโมง	16
ตารางที่ 5 ผลของไซเพอร์เมธรินต่อการยัดเกาะและกินแบบ pinocytosis ของเซลล์ coelomocytes ของไส้เดือนดินที่ได้รับสารเป็นเวลา 48 ชั่วโมง	17
ตารางที่ 6 เปรียบเทียบความไวของคุณลักษณะของ biomarkers สำหรับตรวจสอบไซเพอร์เมธริน	17