

**CHROMOSOMAL ABERRATION AFFECTED FROM
MERCURY AND ARSENIC IN SOME FROG SPECIES
FROM ARTISANAL GOLD MINING AREAS
OF PICHIT PROVINCE,
THAILAND**

HASSAAN ABDUL MUHSIN

**MASTER OF SCIENCE
IN ENVIRONMENTAL SCIENCE**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**GRADUATE SCHOOL
CHIANG MAI UNIVERSITY
FEBRUARY 2018**

**CHROMOSOMAL ABERRATION AFFECTED FROM
MERCURY AND ARSENIC IN SOME FROG SPECIES
FROM ARTISANAL GOLD MINING AREAS
OF PICHIT PROVINCE,
THAILAND**

HASSAAN ABDUL MUHSIN

MASTER OF SCIENCE

IN ENVIRONMENTAL SCIENCE

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**GRADUATE SCHOOL
CHIANG MAI UNIVERSITY
FEBRUARY 2018**

**CHROMOSOMAL ABERRATION AFFECTED FROM MERCURY
AND ARSENIC IN SOME FROG SPECIES FROM ARTISANAL
GOLD MINING AREAS OF PICHIT PROVINCE,
THAILAND**

HASSAAN ABDUL MUHSIN

**A THESIS SUBMITTED TO CHIANG MAI UNIVERSITY IN PARTIAL
FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE**

IN ENVIRONMENTAL SCIENCE

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

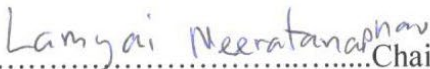
**GRADUATE SCHOOL CHIANG MAI UNIVERSITY
FEBRUARY 2018**


**CHROMOSOMAL ABERRATION AFFECTED FROM MERCURY
AND ARSENIC IN SOME FROG SPECIES FROM ARTISANAL
GOLD MINING AREAS OF PICHIT PROVINCE,
THAILAND**

HASSAAN ABDUL MUHSIN

THIS THESIS HAS BEEN APPROVED TO BE A PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
IN ENVIRONMENTAL SCIENCE

Examination Committee:

 Chairperson
(Asst. Prof. Dr. Lamyai Neeratanaphan)

 Member
(Lect. Dr. Rungnapa Tagun)

 Member
(Asst. Prof. Dr. Chitchol Phalaraksh)

 Member
(Lect. Dr. Isara Patawang)

Advisor:


(Asst. Prof. Dr. Chitchol Phalaraksh)

22 February 2018

Copyright© by Chiang Mai University

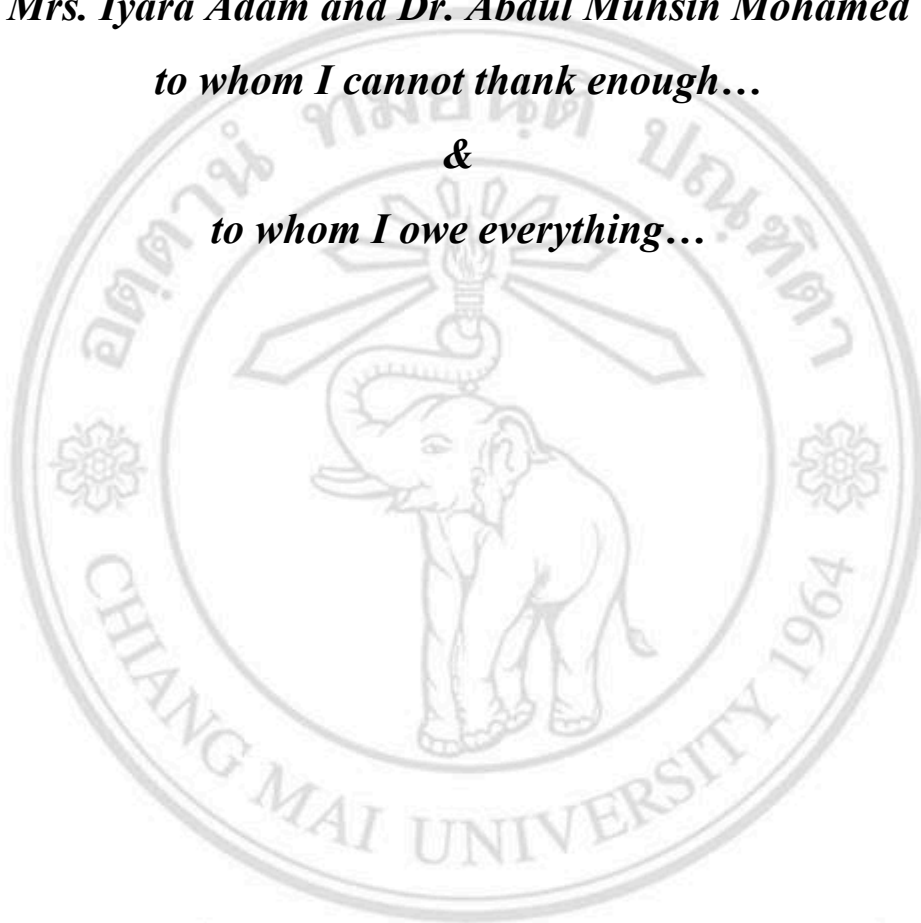
Dedicated to my parents

Mrs. Iyara Adam and Dr. Abdul Muhsin Mohamed

to whom I cannot thank enough...

&

to whom I owe everything...



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to begin by thanking Allah for granting me all the opportunities that I am presented with, my prayer is that I would be graced the straight path of the rightly guided.

My Deepest gratitude to all who helped supported and guided me throughout my study and research at Chiang Mai University. For my advisor Asst. Prof. Dr. Chitchol Phalaraksh, I am, and forever will be grateful and thankful for his time, during which he advised, motivated, encouragement, and guided me tirelessly. I cannot thank him enough for all the opportunities he provided for me, for sharing his wisdom with me and showing me my potential. I would always be his student and would be leaving his laboratory not only a better researcher, but also a better human. I would also like to thank Dr. Isara Patawang for his advice, demonstrations, and constructive feedback. Most of all for showing through example that, progress is attained through sacrifice in solitude.

I would also like to thank Chiang Mai University, Faculty of Science, and specially Environmental Science Program for providing the opportunity for my research. I would also like to thank the head of environmental science research center Asst. Prof. Dr. Somporn Chantara for pinpointing my proficiencies and directing me in the correct path. I would also like to thank the secretary for environmental science research center Miss Padsanee Sriponwaree for all her help throughout my stay in Chiang Mai.

I would also like to thank all the members of the Fresh Water Bio-monitoring Research Laboratory for welcoming me warmly to the family and specially Panida Rahong, Chotiwt Techakijvej, and Thanayaporn Katesuja for giving me a home and a family away from home. I would also like to thank Miss. Patcharee Saejiw, Miss. Tantaraporn Charoenporn and Mr. K.H.Sameera M.Dharmadasa for their help, throughout my research.

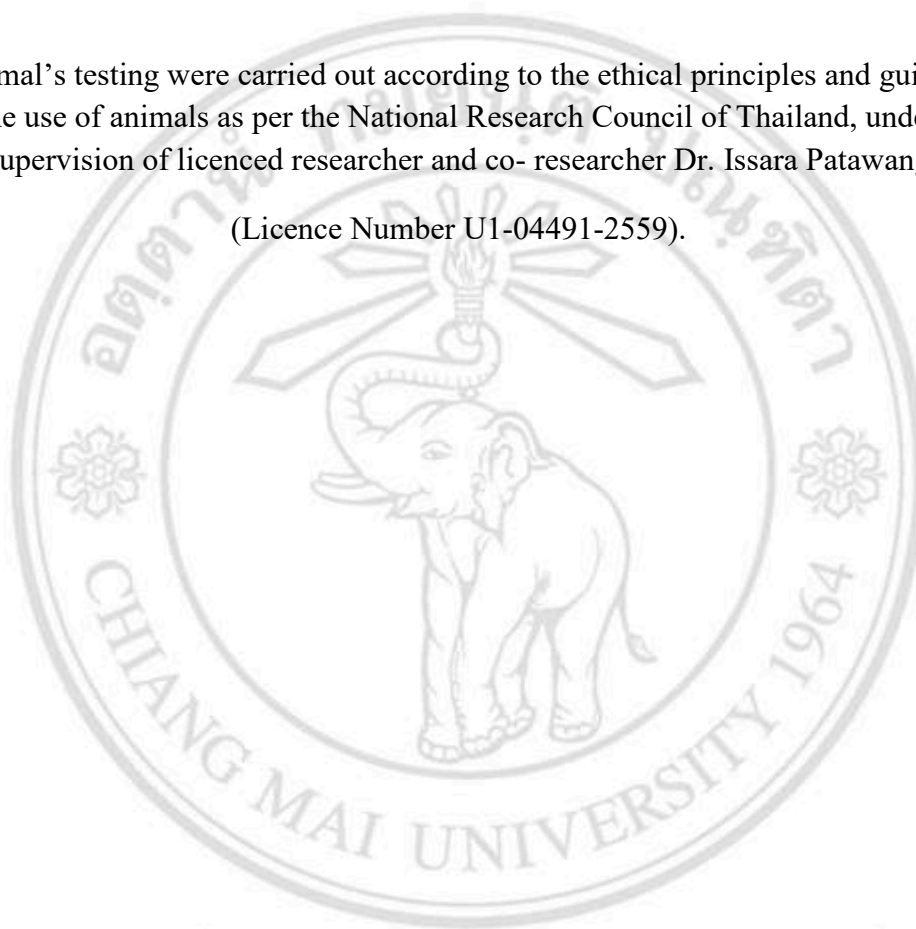
Last but not least, the financial support from Thailand International Cooperation Agency (TICA) is highly acknowledged.

Hassaan Abdul Muhsin

ETHICAL DECLARATION

All animal's testing were carried out according to the ethical principles and guidelines for the use of animals as per the National Research Council of Thailand, under the supervision of licenced researcher and co- researcher Dr. Issara Patawang

(Licence Number U1-04491-2559).



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความผิดปกติของโครโมโซมที่ได้รับผลจากปรอทและสารหนูในกบบางชนิดจากพื้นที่เหมืองแร่ทองคำพื้นบ้าน จังหวัดพิจิตร ประเทศไทย
ผู้เขียน	นายสัตสาร อัลดุล มุส
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตพล ผลารักษ์

บทคัดย่อ

การทำเหมืองแร่ทองคำขนาดเล็กเป็นสิ่งสามารถสร้างรายได้ให้กับผู้ลงทุนให้กับครัวเรือนขนาดเล็กและยังมีการเจริญเติบโตของอุตสาหกรรมนี้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยมีการสนับสนุนผลกระทบในระดับสูงต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งเกิดจากสารหนูและสารปรอทที่เกิดจากกระบวนการทำเหมืองแร่ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยคือการวิเคราะห์หาระดับการปนเปื้อนของสารหนูและสารปรอทในเนื้อเยื่อของกบและการปนเปื้อนต่อสภาพแวดล้อมในถิ่นที่อยู่อาศัยในบริเวณนั้น โดยได้มีการวิเคราะห์และสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงทางด้านโครงสร้างโครโมโซมของกบหนองชนิด *Fejervarya* spp. ที่อยู่ในบริเวณที่มีเกิดการปนเปื้อนของสารโลหะหนักและได้มีการยืนยันผลการทดลองจากสมมุติฐานที่ว่า ถ้าการเปลี่ยนแปลงหรือความผิดปกติของโครโมโซมนั้น สามารถเกิดขึ้นได้ในห้องปฏิบัติการในสภาพที่ควบคุมได้ โดยใช้สายพันธุ์สิ่งมีชีวิตที่เลือกคือ กบนา ชนิด *Hoplobatrachus rugulosus* เพราะฉะนั้นงานวิจัยนี้ได้มีการแบ่งการทดลองออกเป็น ช่วงระยะการ 2 เป็นการเก็บข้อมูลในพื้นที่เหมืองแร่ทองคำขนาดเล็ก มีการเก็บตะกอนดินและ 1 ทดลอง โดยระยะที่เนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตที่มีแหล่งอาศัยอยู่ในพื้นที่บริเวณจุดศึกษานั้น ซึ่งก็คือ กบหนองชนิด *Fejervarya* spp.จากนั้นจะนำตัวอย่างดินและเนื้อเยื่อของกบหนองมาวิเคราะห์หาการปนเปื้อนของสารหนูและสารปรอท โดยเป็นการวิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงหรือความผิดปกติในโครโมโซม จากผลการศึกษาพบว่าตะกอนดินที่เก็บมาจากบริเวณในพื้นที่จุดศึกษา มีปริมาณความเข้มข้นของสารหนู แต่ไม่พบการปนเปื้อนของสารปรอท ผลการศึกษาของสิ่งมีชีวิตคือ กบหนอง จากพื้นที่จุดศึกษา พบว่ามีความเข้มข้นของสารปรอทในปริมาณสูงเกินกว่ามาตรฐานเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานความปลอดภัยในอาหารของประเทศไทย การเปลี่ยนแปลงหรือความผิดปกติของโครโมโซมของกบหนองจากสารปรอทในร่างกายที่อาศัยอยู่บริเวณเหมืองของพื้นที่จุดศึกษา โดยจุดศึกษาที่ 1, 2 และจุดอ้างอิง มีค่าร้อยละ 62, 25 และ มีความแตกต่างกันอย่างมี 1 ตามลำดับ การวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าพื้นที่จุดศึกษาที่ 9 นั้นสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่จุดศึกษาอ้างอิง ($P = 0.047$) อย่างไรก็ตามพื้นที่จุดศึกษาที่ พบว่า 2 ไม่มีความแตกต่างกันมีนัยสำคัญ

ในส่วนที่สองของงานวิจัยจะแบ่งเป็น ช่วง คือ การได้รับสารพิษแบบเฉียบพลันและแบบ 2
เรื้อรัง โดยมีการฉีดปริมาณสารพิษที่กำหนดไว้เข้าสู่ร่างกายของกบนาชนิด *Hoplobatrachus*
rugulosus โดยอ้างอิงข้อมูลมาจากการทบทวนวรรณกรรม กำหนดปริมาณความเข้มข้นของสารพิษที่
จะได้รับ ได้แก่ 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2. วัน 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และสังเกตอาการของกบในทุกๆ 0
จากนั้นได้มีการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงหรือความผิดปกติในโครโมโซม ได้แสดงให้เห็นว่าเมื่อมี
การเพิ่มปริมาณความเข้มข้นขึ้นของการได้รับสารหนูแบบเฉียบพลันนั้น อัตราร้อยละของการ
เปลี่ยนแปลงหรือความผิดปกติในโครโมโซม และการเปรียบเทียบกับกบนาที่เป็นตัวควบคุม โดย
ได้รับสารหนูในปริมาณ 1. มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้น พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทาง 5
สถิติ ($P = 0.057^*$) ระหว่างความสัมพันธ์ของระดับสารหนูที่เพิ่มขึ้นกับความผิดปกติในโครโมโซม
ของกบนาที่เปลี่ยนแปลงไป

กบที่ได้รับปริมาณสารหนูความเข้มข้น 0.0, 1.0 และ 2.12 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในวันที่ 0,
16 และ หลังจากได้รับสารหนูเข้าไปแล้วนั้น มีร้อยละการเพิ่มขึ้นของเปลี่ยนแปลงหรือควา 20ม
ผิดปกติในโครโมโซม การวิเคราะห์ทางสถิติความแตกต่างระหว่างร้อยละที่เพิ่มขึ้นกับตัวอย่างที่
ควบคุมปริมาณของสารหนูนั้น ในช่วงระยะเวลาวันที่ มิลลิกรัมต่อ 2 ที่ได้รับสารหนูในปริมาณ 12
ลิตร พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.031$) ส่วนในวันที่ 16 ะวอย่างกบนาที่
ได้รับสารหนูในปริมาณ มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 2 และ 10.04
และ 0.0007 ตามลำดับ ($P = 0.04$ และ 0.0007) และในวันที่ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมี 20
นัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ($P = 5.00 \times 10^{-06}$) การวิเคราะห์แนวโน้มร้อยละของการเปลี่ยนแปลงหรือ
ความผิดปกติในโครโมโซม ตามระยะเวลาการทดลองทั้ง วัน แสดงให้เห็นถึงร้อยละเปอร์เซ็นต์ที่สูง 3
ร้อยละเปอร์เซ็นต์ของการเปลี่ยนแปลงหรือความ 16 อย่างไรก็ตามหลังจากวันที่ 16 ที่สุดในวันที่
ผิดปกติในโครโมโซมเริ่มมีการลดลง เนื่องจากร่างกายของกบนาเริ่มมีการปรับตัวและพัฒนาเพื่อเพิ่ม
ความทนทานต่อสารหนูที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย ความผิดปกติของโครโมโซมที่วิเคราะห์จากตัวอย่างใน
พื้นที่ภาคสนามด้วยความเข้มข้นของเนื้อเยื่อ บ่งชี้ให้เห็นถึงสิ่งมีชีวิตทั้งหมดที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เหมือง
แร่รวมทั้งมนุษย์ที่จะได้รับสารพิษนี้ ซึ่งอาจนำไปสู่ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมระยะยาว

การเปลี่ยนแปลงหรือความผิดปกติในโครโมโซมที่ถูกวิเคราะห์จากตัวอย่างจากพื้นที่อุตสาหกรรม
กับความเข้มข้นของสารหนูในเนื้อเยื่อของกบนา บ่งชี้ให้เห็นถึงการได้รับสารพิษของสิ่งมีชีวิตที่
อาศัยอยู่ในพื้นที่บริเวณอุตสาหกรรมรวมถึงมนุษย์นั้น แสดงให้เห็นถึงสิ่งมีชีวิตทั้งหมดที่มีความเสี่ยงต่อ
การได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกาย โดยผลกระทบนี้อาจนำไปสู่อันตรายถึงแก่ชีวิต อีกทั้งการเปลี่ยนแปลง

หรือความผิดปกติที่ถูกละเลยในห้องปฏิบัติการ ในการทดลองโดยการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของสารพิษที่เข้าสู่ร่างกาย ดังนั้นงานวิจัยนี้สามารถยืนยันได้ถึงสาเหตุหลักของความเสี่ยงต่อการที่จะได้รับสารพิษ โดยเจ้าหน้าที่ที่รับผิดชอบเกี่ยวกับสาธารณสุขของชุมชน สามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปเผยแพร่หรือกระจายความรู้สู่ประชาชนในพื้นที่ เพื่อลดผลกระทบที่จะเกิดต่อชุมชนการเกษตรกรรม อันเนื่องมาจากการได้รับสารพิษในระยะยาวที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้เพราะเป็นอาชีพหลักของชุมชน



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Chromosomal Aberration Affected from Mercury and Arsenic in Some Frog Species from Artisanal Gold Mining Areas of Pichit Province, Thailand
Author	Mr. Hassaan Abdul Muhsin
Degree	Master of Science (Environmental Science)
Advisor	Asst. Prof. Dr. Chitchol Phalaraksh

ABSTRACT

Artisanal mining for gold is an easy to implement and fast growing farmhouse industry. It is speculated to have a high impact on the environment due to the mobilized arsenic from the gold-ore and mercury from the mining process. Therefore, the objectives of this study were the detection of levels of arsenic and mercury in the habitat and the frog's tissue, to report the chromosomal aberrations observed in the *Fejervarya* spp. living in the heavy metal contaminated areas and to confirm if chromosomal aberrations can be induced in controlled conditions in the laboratory using a selected species (*Hoplobatrachus rugulosus*). Hence, the research was conducted in two halves, the first half was the field study, where sediment was collected with live samples of the *Fejervarya* spp. from the study sites. The sediment and the frogs from the study sites were analysed for concentration of arsenic and mercury. The rest were analysed for chromosomal aberrations. The results of this study found that, sediments from the mines had elevated arsenic concentrations but not mercury. Frogs from the mines contained elevated mercury concentrations above Thailand's food quality standard and trace arsenic concentrations below Thailand's food quality standard. The chromosomal aberrations of frogs living in the mines, site 1 site 2 and reference site were 62, 25 and 9 percent respectively. Statistical analysis shows that site 1 was significantly different in comparison to the reference ($P = 0.047$). However, site 2 was not significantly different regardless of the difference in percentages.

The second half of the research dealt two separate parts of "acute and chronic exposure" where; farmed *Hoplobatrachus rugulosus* were injected a range of arsenic derived from

literature. Frogs injected with concentrations including 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 mg/l observed for 4 days as acute exposure were analysed for chromosomal aberrations. The experiment showed that acute exposure to increasing concentrations of arsenic results in an increase in the percentage chromosomal aberration and in comparison to the control only 1.5 mg/l showed a statistical significance ($P=0.057^*$) Hence, showing an increasing relationship between acute exposures of arsenic to that of increasing chromosomal aberrations.

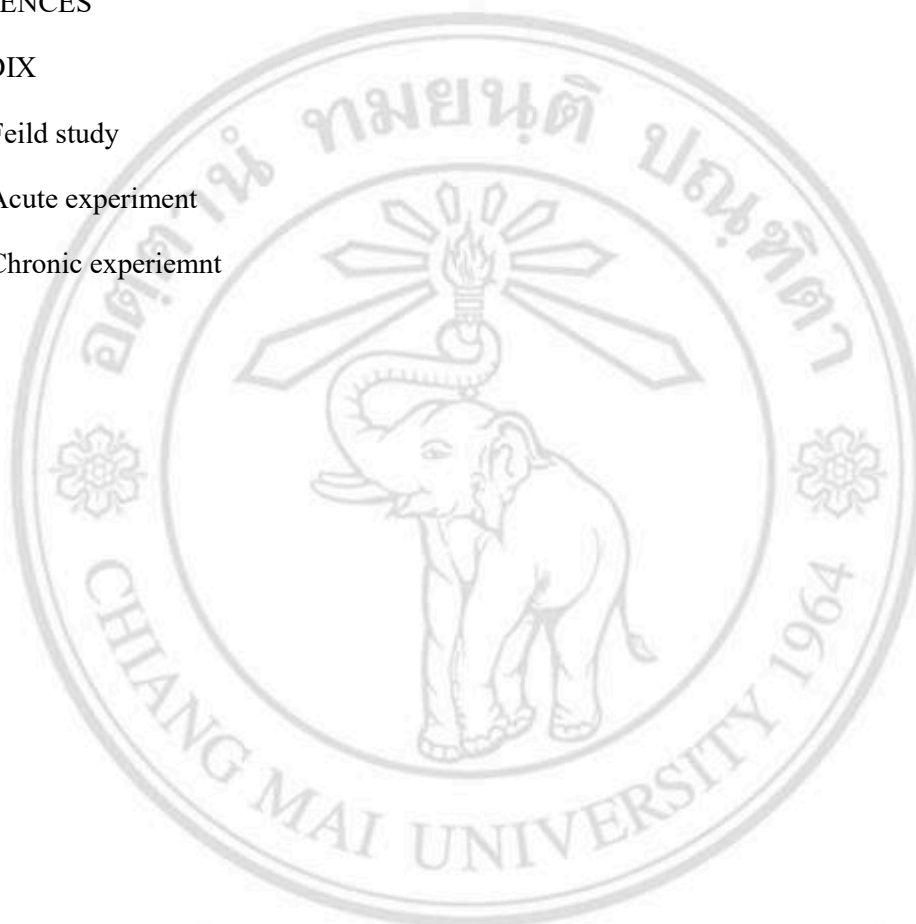
Frogs injected with concentrations including 0.0, 1.0, and 2.0 mg/l observed for 12, 16, and 20 days as chronic exposure were analysed for chromosomal aberrations. Exposure for 12, 16, and 20 days to increasing concentrations of arsenic resulted in increasing percentage chromosomal aberrations. Statistical analyses of the difference between this percentage increase to their respective control showed that on the 12th day, the specimens exposed to 2 mg/l was statistically significant ($P=0.031$). On the 16th day, the specimens exposed to 1 mg/l and 2 mg/l showed a statistical significance ($P=0.04$ and 0.0007 respectively). On the 20th day, the specimens exposed to 2 mg/l was statistically significant. ($P=5.00 \times 10^{-06}$). Analysis of the trend of percentage of aberrations for all 3 days shows the highest percentage aberration on the 16th day. However, after 16 days the percentage aberration generally decreased hinting at development of tolerance to arsenic.

The chromosomal aberrations analysed from the specimens from the field study with the tissue concentrations hints at an exposure to all life living in the mining sites including humans. This may lead to devastating results in the years to come. The aberration analysed with the increasing exposure concentration in the induction experiment confirms exposure as the main cause. Alerting the authorities of these findings will help inform, educate, and mitigate the farming communities from inevitable future hazard

CONTENTS

Acknowledgement	iv
Abstratc	vi
List of Figures	xix
List of Tables	xxv
CHAPTER 1, Introduction	xix
CHAPTER 2, Literature Review	4
2.1. Point Source - Gold Mine.	4
2.2.Mercury	6
2.3.Arsenic	8
2.4.Boi-indicators	10
2.5.Selected Frog Species.	10
2.6.Amphibian Husbandry	13
2.7.Age and Lines of Arrested Growth (LAG).	16
2.8.Mode of Admission	17
2.9.Staining	18
2.10.Frogs as Food	18
2.11.Cytogenetic testing	18
CHAPTER 3, Methodology	20
3.1.Field Study of the Mining Area	21
3.2.Laboratory Experiment.	26
3.3.Preparing the Cells for Observation	26
3.4.Staining of the Cells for Observation	28
CHAPTER 4, Results and Discussion	37
1.1. Field Study of the Mining Area	37

1.2. Laboratory Experiments	50
CHAPTER 5, Conclusion and Recommendations	70
5.1. Conclusion	70
5.2. Recommendations and Limitations	72
REFERENCES	.74
APPENDIX	94
.1 Feild study	94
.2 Acute experiment	108
.3 Chronic experiemnt	111



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

LIST OF FIGURES

Figure 1 one of the steps of the process of Artisanal mining; the panning, magnetic metal dust removed before the introduction of mercury into the pan.	5
Figure 2 a defrosted specimen of the species <i>Fejervarya limnocharis</i>	11
Figure 3 a defrosted specimen of the species <i>Fejervarya cancrivora</i>	12
Figure 4 a defrosted specimen of the species <i>Hoplobatrachus rugulosus</i> .	12
Figure 5 an example of a closed system enclosure. The system is not plumbed, therefore needs extra attention and care for cleaning	13
Figure 6 an example of a closed system enclosure, with two frogs of the species <i>Sylvirana nigrovittata</i> housed inside as a trail system in the lab.	14
Figure 7 an example of an open system enclosure. The system is plumbed, therefore cleans itself	14
Figure 8 an example of the "red-leg" disease observed in <i>Hoplobatrachus rugulosus</i>	20
Figure 9 the outline of the methodology.	18
Figure 10 the study sites are located in Pichit Province, Thailand.	21
Figure 11 reference site, a farm with no mining activity about 6.5 Km north from the mines.	22

Figure 12 mine 1 (Site 1) fish farming pool.	22
Figure 13 mine 2 (Site2), a farm with different types of crops.	23
Figure 14 a diagrammatic example of sub sampling process according to the Cornell Framework.	24
Figure 15 A diagrammatic example of mixing the sub samples for a representative sample.	25
Figure 16 single chromatid break observed on by Tengjaroenkul et al, (2017).	30
Figure 17 fragments observed by Tengjaroenkul et al, (2017).	32
Figure 18 terminal deletion observed by Suttichaiya et al, (2016)	32
Figure 19 different types of gaps as observed by Tengjaroenkul et al, (2017).	34
Figure 20 ring chromosomes observed by Zhao et al, (2014).	34
Figure 21 clumping as observed by Zhang et al. (2010)	35
Figure 22 minutes observed by Bansal et al.(2015)	35
Figure 23 pulverization as observed by Ikeuchi, Weinfeld, and Sandberg (1972).	36
Figure 24 sediment arsenic concentration from all the study sites.	37
Figure 25: sediment mercury concentration from all the study sites	38
Figure 26 mercury tissue concentration of the <i>Fejervarya limnocharis</i> collected from all the sites	40

Figure 27 arsenic tissue concentration of the <i>Fejervarya limnocharis</i> collected from all the sites.	41
Figure 28 mercury tissue concentration of the <i>Fejervarya cancrivora</i> collected from all the sites	41
Figure 29 arsenic tissue concentration of the <i>Fejervarya cancrivora</i> collected from all the sites	42
Figure 30 the karyotype of <i>Fejervarya limnocharis</i> collected from the reference area where $2n = 26$ chromosomes are arranged according to the centromere arrangement	43
Figure 31 the karyotype of <i>Fejervarya cancrivora</i> collected from the reference area where $2n = 26$ chromosomes are arranged according to the centromere arrangement	43
Figure 32 a metaphase karyotype of <i>Fejervarya limnocharis</i> from site 1 showing centromere break at one of the metacentric 4th pairs and single chromatid break at the q- chromatid on one of the sub metacentric 7th pair.	44
Figure 33 a metaphase karyotype of <i>Fejervarya cancrivora</i> from site 1 showing a centromere break at the sub metacentric 7th pair	44
Figure 34 a metaphase karyotype of <i>Fejervarya limnocharis</i> from site 2 showing a centromere break at one of the 1st pair.	44
Figure 35 a metaphase karyotype of <i>Fejervarya cancrivora</i> from site 2 showing a single chromatid break at the q- chromatid on one of the sub metacentric 8th pair	45

Figure 36 the different types of chromosomal aberrations observed in metaphase spread of both the species from A till F.	45
Figure 37 total number of aberrations per site	46
Figure 38 percentage number of aberrations per site	47
Figure 39 percentage aberrations per species on the reference site.	48
Figure 40 percentage aberrations per species on site 1.	49
Figure 41 percentage aberrations per species on site 2.	49
Figure 42 a karyotype of one of the samples from the control	51
Figure 43 centromere breaks resulting in fragments	51
Figure 44 pulverised chromosomes observed	51
Figure 45 illustrated trend in the averaged total number of aberrations per trial.	53
Figure 46 illustrated percentage of aberrations per trial	54
Figure 47 Sample karyotype of the metaphase of <i>Hoplobatrachus rugulosus</i>	56
Figure 48 fragmented cells observed in the chronic exposure	57
Figure 49 minute chromosome observed in the chronic exposure.	57
Figure 50 ring chromosomes observed in the chronic exposure	57
Figure 51 clumping and pulverised chromosomes observed in chronic exposure.	57

Figure 52 the visualised change in trend of the aberrations for three concentrations of exposure for the 12th day.	62
Figure 53 the visualised change in trend of the aberrations for three concentrations of exposure for the 16th day.	63
Figure 54 the visualised change in trend of the aberrations for three concentrations of exposure for the 20th day.	64
Figure 55 the visualised change in trend of the aberrations over the three days of exposure for control.	65
Figure 56 the visualised trend of the aberrations over the three days of exposure for 1mg/l.	65
Figure 57 the visualised trend of the aberrations over the three days of exposure for 2mg/l.	66
Figure 58 ICP OES report of the sediment samples form the reference site.	96
Figure 59 ICP OES report of the sediment samples form site 1.	97
Figure 60 ICP OES report of the sediment samples form site 2.	98
Figure 61 ICP OES report of the frog tissue samples form the reference site. (FL)	99
Figure 62 ICP OES report of the frog tissue samples form the reference site. (FC)	100
Figure 63 ICP OES report of the frog tissue samples form site 1. (FC)	101
Figure 64 ICP OES report of the frog tissue samples form site 1. (FL)	102
Figure 65 ICP OES report of the frog tissue samples form site 2. (FC)	103



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

LIST OF TABLES

Table 1 summery, total number of aberrations	46
Table 2 summery, percentage number of aberrations per site	47
Table 3 summery, percentage aberrations per species on the reference site.	48
Table 4 summery, percentage aberrations per species site 1.	49
Table 5 summery, percentage aberrations per species site 2.	49
Table 6 summery, the average total and the average percentage number of aberrations per trial of acute exposure	51
Table 7 summery, the total number of aberrations per trial per day.	59
Table 8 percentage aberrations observed in chronic exposure	60
Table 9 statistical analysis of the percentage aberrations against concentration and time.	67
Table 10 the concentration of arsenic and mercury in the sediment collected from the mines and the reference site	94
Table 11 the concentration of mercury and arsenic in the tissue of the frog collected from the mines and the reference site.	94
Table 12 the types of aberrations observed on the specimens in relation to the sites, the total aberrations per 100 cells in each animal, the number of cells with chromosomal aberrations, percentage aberrations, average percentage per species per site and the comparison of each site with the control.	95
Table 13 raw data sheets for the sites and the species for the field study	105

Table 14 average number of the total and the percentage aberrations pre trial	108
Table 15 raw data for the acute experiment.	109
Table 16 observed variations of aberrations from the chronic exposure to arsenic on the 12th day.	111
Table 17 observed variations of aberrations from the chronic exposure to arsenic on the 16th day.	112
Table 18 observed variations of aberrations from the chronic exposure to arsenic on the 20th day.	113
Table 19 raw data for the chronic experiment.	114