สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาพืชสวน

T109033

เรื่อง

ผลของสารสกัดพุทธชาติก้านแดงที่มีผลต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ในปลายรากหัวหอมใหญ่

Cytogenetic Effect of Leaf Extract of Spanish Jasmine in Root Meristem Cells of *Allium Cepa* L.

โดย

นางสาวกนกพร ช้างเสวก

นางสาวจันทณี สนธิ

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ. มณทินี ธีรารักษ์

เสนอ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....109033
วัน,เดือน,ปี.....-2 ส.ค. 2553

b.....
i.....

ภาควิชาพืชสวน

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง
ผลของสารสกัดพุทธชาติก้านแดงที่มีผลต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ในปลายรากหัวหอมใหญ่
Cytogenetic Effect of Leaf Extract of Spanish Jasmine
in Root Meristem Cells of *Allium Cepa* L.

โดย
นางสาวกนกพร ช้างเสวก
นางสาวจันทณี สนธิ

.....
(ผศ. มณทินี ธีรารักษ์)
อาจารย์ที่ปรึกษา
วันที่ 17 เดือน มี.ค. พ.ศ. 52

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
(รศ.ดร. สมชาย กล้าหาญ)
หัวหน้าภาควิชาพืชสวน

วันที่ 26 เดือน มี.ค. พ.ศ. 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง : ผลของสารสกัดพุทธชาติก้านแดงที่มีผลต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ในปลายรากหัวหอมใหญ่
โดย : นางสาวกนกพร ช้างเสวก
นางสาวจันทณี สนธิ
สาขาวิชา : การจัดการสิ่งแวดล้อมพืชสวน
ภาควิชา : พืชสวน
คณะ : เทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.มณทินี ธีรารักษ์

บทคัดย่อ

การศึกษาผลทางอัลลีโลพาทีของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพุทธชาติก้านแดง ต่อดัชนีการแบ่งเซลล์ เปอร์เซนต์ของเซลล์ที่เข้าสู่ไมโทติกในระยะต่างๆ และความผิดปกติของเซลล์ปลายรากหอมหัวใหญ่ ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 12.5, 25, 50, 100, 200 และ 400 ppm โดยมีน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม เป็นเวลา 6, 12 และ 18 ชั่วโมง พบว่าดัชนีการแบ่งเซลล์ที่บริเวณปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ได้รับสารสกัดจากพุทธชาติก้านแดงลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของจำนวนเซลล์ที่เข้าสู่ระยะ โพรเฟส เมทาเฟส แอนาเฟส และเทโลเฟส เซลล์ในระยะโพรเฟสมีอัตราเพิ่มสูงขึ้น ส่วนเซลล์ที่เข้าสู่ไมโทติก ในระยะอื่นๆ มีสัดส่วนลดลง และยังพบว่าที่ความเข้มข้น 400 ppm เวลา 18 ชั่วโมงไม่พบการแบ่งเซลล์ อิทธิพลของสารสกัดจากพุทธชาติก้านแดง ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวของโครโมโซมที่ผิดปกติและรบกวนการสร้างสายสปินเดิลภายในเซลล์ ลักษณะความผิดปกติของเซลล์ในระยะโพรเฟสมีผลรบกวนสปินเดิล ส่วนระยะเมทาเฟสเกิดลักษณะ chromosome stickiness, c-metaphas และ non-oriented chromosome ในระยะแอนาเฟสพบลักษณะความผิดปกติของเซลล์คือ chromosome stickiness, diagonal, bridges, unequal disturbance of chromosome และการเข้าสู่เซลล์ในบางโครโมโซมช้ากว่าปกติ และระยะเทโทเฟสพบความผิดปกติ คือ diagonal แสดงถึงความเป็นพิษของสารสกัดจากพุทธชาติก้านแดงต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ของรากหอมหัวใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	:	Cytogenetic Effect of Leaf Extract of Spanish Jasmine in Root Meristem Cells of *Allium Cepa* L.
By	:	Miss Kanokporn Changsawake Miss Jantanee Sonti
Major	:	Environmental Horticulture management
Department	:	Horticulture
Faculty	:	Agriculture Technology
Advisor	:	Assist. Prof. Montinee Teerarak

Abstract

To study mode of action responsible for allelopathic toxicity, cytogenetic effect of aqueous extracts prepared from dried leaves of *Jasminum officinale* Linn.f.var. *grandiforum* (Linn.) Kob. (Spanish Jasmine) was examined through mitotic index, mitotic phase index and cell division abnormalities on the root meristem cells of *Allium cepa* L. Six concentrations of Spanish Jasmine extracts (12.5 to 400 ppm) were applied for 6, 12 and 18 h. The mitotic index in treated onion root tips decreased with increasing concentrations of Spanish Jasmine extracts and longer periods of treatment. In addition, the mitotic phase index was altered in onion incubated with Spanish Jasmine. The results showed that the increase in the percentage of the prophase phase in contrast to the percentage of remaining phases was found to be decreased. The highest concentration of Spanish Jasmine (400 ppm) was cytotoxic after 18 h. exposure time, as determined by complete absence of cell division. Spanish Jasmine extract produced the mitotic abnormalities resulting from its action on chromatin organization and mitotic spindle. Spanish Jasmine produced mitotic abnormalities including spindle disturbance at prophase, chromosome stickiness at metaphase, c-metaphase, non-oriented chromosome, chromosome stickiness at anaphase, diagonal at anaphase, bridge anaphase, unequal distribution of chromosome and diagonal at telophase. It is clear from the results of the present study that Spanish jasmine is cytotoxic on meristematic cells of the tested plant.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

จากการจัดทำปัญหาพิเศษเรื่อง ผลของสารสกัดพุทธชาติก้านแดงที่มีผลต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ในปลายรากหัวหอมใหญ่นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาในระดับปริญญาตรี ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์มณทินี ธีรารักษ์ เป็นอย่างสูง ที่ให้คำปรึกษาและให้คำแนะนำการแก้ไขปัญหาต่างๆ ในการจัดทำปัญหาพิเศษในเรื่องนี้ จนทำให้ปัญหาพิเศษสำเร็จฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ รวมถึงคณาจารย์ท่านอื่นๆ ที่ช่วยให้ความรู้ คำแนะนำ ในการจัดทำปัญหาพิเศษนี้ด้วย

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุกๆ คนในครอบครัว ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษาตลอดมาจนสำเร็จด้วยดี

ด้วยความเคารพอย่างสูง

กนกพร ช้างเสวก

จันทณี สนธิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	i
สารบัญตาราง	ii
สารบัญภาพ	iii
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	1
ตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	7
ผลการทดลอง	11
วิจารณ์ผลการทดลอง	17
สรุป	18
เอกสารอ้างอิง	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ค่าดัชนีการแบ่งเซลล์และสัดส่วนของเซลล์ที่เข้าสู่ไมโทติก ในระยะต่างของรากหอมหัวใหญ่ ที่ปลูกในสารสกัดจากใบพุทธชาติก้านแดง 13

ตารางที่ 2 ชนิดและสัดส่วนของความผิดปกติของเซลล์บริเวณรากหอมหัวใหญ่ ที่ปลูกในสารสกัดจากใบพุทธชาติก้านแดง 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ลักษณะโครโมโซมปกติของรากหอมหัวใหญ่ที่เลี้ยงในน้ำประปาที่กำลังขยาย 400 เท่า	15
ภาพที่ 2 ลักษณะเซลล์ที่ผิดปกติของรากหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในน้ำสกัดพุทธชาติก้านแดงที่กำลังขยาย 400 เท่า	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ในการทำการเกษตรของเกษตรกรส่วนใหญ่ มีการใช้สารเคมีมาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชกันเป็นจำนวนมาก โดยมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย ขาดความเข้าใจที่ถูกต้องในการปฏิบัติและขาดความระมัดระวังกับวัตถุมีพิษเหล่านั้น ซึ่งสารเคมีเหล่านี้มีส่วนประกอบของวัตถุมีพิษอยู่ด้วย อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม จากสถิติของกระทรวงสาธารณสุข ในปีหนึ่งๆ พบว่า มีผู้ป่วยจากการใช้วัตถุมีพิษซึ่งก่อให้เกิดอันตรายแก่ร่างกาย ประมาณ 5,000 คน ผู้ที่ได้รับวัตถุมีพิษเหล่านี้มีโอกาสเสี่ยงเป็นโรคมะเร็งสูง นอกจากนั้นยังสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรม ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในรุ่นลูกหลานร่างกายอ่อนแอลง จากสาเหตุดังกล่าว ทำให้หน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชน ได้ตระหนักถึงผลกระทบที่เกิดขึ้นในด้านอันตรายของสารพิษเหล่านี้ สุขภาพของประชาชนและปัญหาสิ่งแวดล้อม เกษตรกรผู้ใช้เองก็เริ่มตระหนักถึงผลที่เกิดขึ้นกับสมาชิกในครอบครัว สุขภาพที่เสื่อมโทรม พิษต่อปลาสัตว์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ซึ่งส่งผลต่อการส่งออกสินค้าเกษตรไปต่างประเทศ เนื่องจากสารพิษตกค้างเกินค่าความปลอดภัย เพื่อเป็นการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นจากการใช้วัตถุมีพิษทางการเกษตรชนิดสังเคราะห์จึงต้องการสิ่งทดแทนคือ สารธรรมชาติจากพืชที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เกษตรกรสามารถทำใช้เองได้ และสลายตัวได้เร็ว ไม่ก่อปัญหาสารพิษตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อม ไม่เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ (สำนักงานเกษตรจังหวัดนนทบุรี, 2548) ซึ่งปัจจุบันได้มีการศึกษาผลทางอัลลีโลพาทีของพุทธชาติก้านแดง พบว่าสารสกัดจากพุทธชาติก้านแดงสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืชหลายชนิด อาทิเช่น หญ้าข้าวนก (*Echinochlon crass-galli*) โสน (*Aeschynomene indica*) ไมยรา (*Demanthus virgatus*) และหญ้าอะตราตัม (*Paspalum atratum*) เป็นต้น แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงกลไกการเข้าทำลายพืช จึงได้มีการศึกษาผลของสารสกัดพุทธชาติก้านแดงที่มีผลต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ในปลายรากหอมหัวใหญ่ ซึ่งต่อไปอาจนำสารสกัดจากใบพุทธชาติก้านแดงมาใช้ในการกำจัดวัชพืชได้ในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากใบของพุทธชาติก้านแดงที่มีผลกระทบต่อดัชนีการแบ่งตัวของเซลล์ และสัดส่วนของเซลล์ที่เข้าสู่ระยะไมโทติก

2. เพื่อศึกษาผลกระทบของสารสกัดจากใบของพุทธชาติก้านแดงในแต่ละความเข้มข้นที่มีผลต่อลักษณะความผิดปกติของโครโมโซม ในระยะต่างๆของการแบ่งเซลล์แบไมโทติก

3. เพื่อศึกษากลไกสารสกัดจากใบพุทธชาติก้านแดงในการเข้าทำลายพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

พุทธชาติก้านแดง

มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Jasminum officinale* Linn. f. Var. *grandiflorum* (L.) Kob. อยู่ในวงศ์ Oleaceae ชื่ออื่น จัสมิน มะลิก้านแดง มะลิฝรั่งเศส มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบเอเชียไมเนอร์ เขตเทือกเขาหิมาลัย และตอนใต้ของจีน ลักษณะทั่วไป เป็นไม้พุ่มกึ่งเลื้อย อายุหลายปี ลำต้นเป็นเหลี่ยม เลื้อยได้ไกลถึง 6 เมตร ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนก ปลายใบคี่ มีใบย่อย 5-9 ใบ รูปรี ขนาด 2-3 x 4-5 เซนติเมตร ปลายใบและโคนใบมน ก้านใบสั้นออกดอกเป็นช่อตามปลายกิ่ง แต่ละช่อขนาดใหญ่มี 3 ช่อย่อย กลีบเลี้ยงสีเขียว โคนกลีบเลี้ยงเชื่อมติดกัน ปลายกลีบแยก 5 แฉก ดอกตูมสีแดงเข้ม เมื่อบานเต็มที่กลีบดอกสีขาว ดอกรูปดอกเข็ม โคนกลีบเชื่อมติดเป็นหลอดแคบ ปลายแยก 5 กลีบ เส้นผ่านศูนย์กลาง 3-4 เซนติเมตร มีกลิ่นหอม ออกดอกตลอดปี ออกดกในช่วงฤดูหนาว ขยายพันธุ์โดยการ ปักชำ ทาบกิ่ง และตอนกิ่ง สภาวะที่เหมาะสม แสงแดดรำไร-จัด ดินชุ่มชื้นและระบายน้ำดีประโยชน์ ปลูกเป็นไม้ประดับซุ้มไม้เลื้อย มีดอกสวยงามและมีกลิ่นหอมมาก ดอกสดมีน้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว กลั่นไอน้ำทำเป็นหัวน้ำหอมสำหรับแต่งกลิ่นเครื่องสำอาง (ปิยะ, 2540)

สารออกฤทธิ์ที่สะสมในพืชแต่ละชนิด

สารออกฤทธิ์ต่อศัตรูพืช ที่มีอยู่ในพืชต่างๆ นั้น เกิดจากกระบวนการทางชีวเคมีในพืช และทำให้เกิดการสะสมในส่วนของพืชแตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น พวกน้ำมันหอมระเหย มักพบในส่วนของใบ แต่ในพืชบางชนิดสะสมในดอก เช่น ยี่โถ ดอกรัก ในผล เช่น พริกไทย ดีปลี ในเมล็ด เช่น สะเดา น้อยหน่าและในส่วนของลำต้น เช่น หางไหล หนอนตายหยาก ขมิ้นชัน ว่านน้ำ เป็นต้น (สำนักงานเกษตรจังหวัดนนทบุรี, 2548)

การเก็บเกี่ยวพืชเพื่อนำสารออกฤทธิ์ไปใช้ประโยชน์

การเก็บเกี่ยวพืชเพื่อนำสารออกฤทธิ์ไปใช้ประโยชน์ จะต้องพิจารณาเลือกอายุของพืชให้เหมาะสม เนื่องจากสารแต่ละชนิดจะมีปริมาณสูงสุดในช่วงเวลาต่างกัน เช่น รากหางไหล อายุ 2 ปี จะให้ปริมาณโรติโนนสูงสุด ใบตะไคร้หอม อายุ 7-11 เดือน จะมีปริมาณสารออกฤทธิ์สูงสุด เป็นต้น และสิ่งสำคัญอีกประการหนึ่งก็คือ ช่วงระยะเวลาที่จะเก็บ เนื่องจากสารแต่ละชนิดจะสะสมมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับฤดูกาล และเวลาที่จะเก็บ เช่น การเก็บส่วนของใบพืช ควรจะเก็บในตอนกลางวัน ในสภาพอากาศแห้ง เนื่องจากเวลานี้จะเกิดการสังเคราะห์แสงอย่างเต็มที่ และสารยังไม่ได้เคลื่อนที่ไปส่วนอื่นของต้น ถ้าเป็นพืชที่มีสารน้ำมันหอมระเหย เช่น กะเพรา โหระพา สาบเสือ ควรเก็บตอนเช้าตรู่ เพราะจะได้ปริมาณน้ำมันมากที่สุด เนื่องจากแสงแดดจะทำให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยในใบลดลง ส่วนของดอก ควรเก็บในระยะที่ดอกเริ่มจะบาน ถ้าเป็นผล ควรเก็บก่อน ผลสุก

เอกสารนี้สงวนลิขสิทธิ์ สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิฉะนั้นสารจะเคลื่อนที่ไปในเมล็ด ส่วนที่เป็นเมล็ด ควรเก็บเมื่อผลสุกเต็มที่แล้ว เช่น สะเดา ถ้าส่วนราก ก็เก็บตอนระยะให้ดอก เนื่องจากระยะนี้ขบวนการทางชีวเคมีจะหยุดลง ซึ่งมักพบในฤดูหนาว และส่วนเปลือก ก็ให้เก็บในฤดูร้อน หรือเริ่มต้นฤดูฝนก่อนจะแตกใบใหม่ (สำนักงานเกษตรจังหวัดนนทบุรี, 2548)

วิธีการสกัดสารสกัดจากพืช

การสกัดสารจากพืชเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมป้องกันกำจัดแมลงและวัชพืช รังสิต (2527) และชอุ่ม (2536) ได้แบ่งวิธีการสกัดออกเป็น 4 วิธีดังนี้ คือ

1. การหมัก (fermentation) เป็นการนำชิ้นส่วนของพืชซึ่งตากแห้งหรือชิ้นส่วยสดตัดเป็นท่อน หรือบดละเอียดมาแช่ในน้ำหรือสารเคมี แล้วทิ้งไว้ระยะหนึ่งซึ่งอาจเป็นชั่งโมงหรือเป็นวัน เมื่อครบตามกำหนดแล้วจึงนำไปกรองแยกกากออกนำสารเคมีที่ได้ไปใช้

2. วิธีสกัดด้วยสารเคมี (chemical extraction) เป็นการสกัดชิ้นส่วนของพืชที่ตากแห้งหรืออบแห้งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ ที่นำส่วนที่สกัดได้มาระเหยแห้งด้วยความดันต่ำ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 - 6 องศาเซลเซียส เพื่อทดสอบต่อไป ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ เช่น hexane, ether, dichorometanes, alcohol เป็นต้น

3. วิธีสกัดด้วยน้ำ (water – system distillation) เป็นวิธีที่ใช้ได้ผลดีกับพืชที่มีกลิ่นหรือมีน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบโดยอาศัยหลักการของไอน้ำร้อนทำให้สารน้ำมันหอมระเหยแยกตัวโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์นำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำ เก็บสารที่ได้ไว้ในตู้เย็นใช้ทดสอบต่อไป

4. การสกัดน้ำธรรมดา (water extraction) โดยการนำชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชตัดเป็นชิ้นเล็กๆ และนำไปแช่น้ำในอัตราส่วนของพืชต่อน้ำ 1 : 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรหรืออย่างน้อยให้มีปริมาตรท่วมชิ้นส่วนของพืช แช่ทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมงนำไปกรองด้วยผ้ากรองละเอียด เก็บสารที่กองไว้ในตู้เย็นเพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

ผลทางอัลลีโลพาทีของพุทธชาติก้านแดง

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาผลทางอัลลีโลพาทีของพุทธชาติก้านแดงโดยดารารัตน์ (2547) พบว่าสารสกัดในส่วนของใบ สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดโสน (*Aeschynomene indica*) ไมยรา (*Desmanthus virgatus*) หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crass-galli*) และหญ้าอะตราตัม (*Paspalum atratum*) ได้ดีกว่าสารสกัดในส่วนของกิ่ง ลำต้น และส่วนผสมทั้งสามส่วนรวมกัน (ส่วนใบ กิ่งและลำต้น) โดยเฉพาะการใช้สารสกัดจากส่วนใบที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนกและหญ้าอะตราตัมได้อย่างสมบูรณ์ และยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การงอกเมล็ดโสนและไมยราได้ 70.84 และ 94.29 เปอร์เซ็นตามลำดับ ส่วนระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 3.12 ,12.50 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากส่วนใบมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้าโสนและหญ้าข้าวนกมากที่สุด ในขณะที่สารสกัดจากส่วนผสมของทั้ง 3 ส่วนรวมกัน มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้าไมยรา มากกว่าการใช้สารสกัดจากส่วนอื่นๆ เมื่อการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดน้ำจากใบพุทธชาติก้านแดง ที่ระดับความเข้มข้น 3.12 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับสารละลายที่มีค่า pH 1 ถึง 7 สารละลายที่มีค่า EC 2 ถึง 10 ms/cm ต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว (*Raphanus sativus* var. *longipinnatus* L.) ไมยรา ข้าว (*Oryza sativa*) และหญ้าข้าวนก พบว่า มีเพียงสารละลายที่มีค่า pH 1 เท่านั้น ที่มีผลให้การงอกของพืชทดสอบลดลงในขณะที่สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหัวได้ นอกจากนี้ยังศึกษาถึงผลตกค้างและระยะเวลาในการย่อยสลายในดินของสารจากใบพุทธชาติก้านแดง โดยการใช้ดินที่ผสมใบพุทธชาติก้านแดงและหมักไว้เป็นเวลา 0 ถึง 28 วัน ที่แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนที่ 1 ดินผสม ส่วนที่ 2 สกัดด้วยน้ำ นำทั้ง 2 ส่วนมาทดสอบกับการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบพบว่าการใช้ดินผสมและสารสกัดน้ำจากดินผสมที่ไม่มีการหมักมีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าดีที่สุด การเพิ่มระยะเวลาการหมักดินผสมมีผลให้ศักยภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบลดลง

ลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดจากสารอื่นๆ

El-Ghamery et al., (2003) ทำการศึกษาผลกระทบของ Zinc sulfale (Zn^{2+}) กับการงอกของเมล็ด และความยาวรากของ *Nigella saliva* L. และ *Triticum aestivum* L. โดยทดสอบที่ 5 ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 ppm ที่เวลา 6, 12, 18 และ 24 ชม. พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด N. saliva และเมล็ด *T. aestivum* ลดลง และยับยั้งการเจริญเติบโตของรากในพืชทั้งสองชนิด ในระดับความเข้มข้นของสังกะสี 25 mg/l เมื่อให้สารเป็นเวลา 24 ชม. พบว่าไม่แสดงความเป็นพิษต่อพืชทั้งสองชนิด แต่มีผลทำให้ค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ลดลง ในการลดลงของดัชนีการแบ่งตัวพบว่าที่บริเวณปลายรากของ *T. aestivum* มีความชัดเจนมากกว่า N. saliva เปอร์เซ็นต์ของความผิดปกติของเซลล์ N. saliva มากกว่า *T. aestivum* พบลักษณะความผิดปกติที่เกิดจากสายสปินเดิลภายในเซลล์ เช่น C-metaphase, lagging chromosomes และ multipolar anaphase telophase นอกจากนี้สังกะสี ยังชักนำการเกิด vacuolated nuclei การติดสีในระยะโพรเฟสไม่สม่ำเสมอ โครโมโซมขดตัวกันแน่นและเกิดการแตกหักของโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hossain et al., (2004) ได้ทำการศึกษาผลของ NaCl ต่อการแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากของ *Chrysanthemum morifolium* (ดอกเบญจมาศ) โดยใช้ดอกเบญมาศ 2 พันธุ์คือ White Stafour และ Kelvin Tito ทำการเพราะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเหลวสูตร MS โดยเพิ่ม NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 0, 50, 75, 100 mM พบว่าความเข้มข้นของ NaCl ที่เพิ่มขึ้น สามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์ และความผิดปกติภายในเซลล์ที่พบคือ Bridge, Stickiness, fragment, early separation, exclusion, laggard และ clumping micronuclei

Kuras et al., (2006) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโครโมโซม, กิจกรรมการแบ่งเซลล์จากเซลล์หัวหอมที่ทดสอบกับน้ำสกัดจากเปลือก *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC โดยนำรากหอมหัวใหญ่บ่มที่ความเข้มข้นต่างๆ (2, 4, 8 และ 16 mg/ml) ในสารสกัดของ U. *tomentosa* (Willd.) DC ที่เวลา 3, 6, 12, 24, 48 และ72 ชม. พบว่าสารสกัดมีผลทำให้กิจกรรมการแบ่งเซลล์ลดลง มีการเปลี่ยนแปลงของ phase index และมีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์ที่ระยะ interphase และในระยะ G_2 ที่จะเข้าสู่ระยะ prophase ทำให้เกิดความผิดปกติโดยเซลล์อัดตัวกันแน่น และความผิดปกติแบบ c-metaphase

Glinska et al., (2007) ศึกษาผลของกลุ่มสารที่ทำให้พืชมีสีม่วงแดง (ATH) ที่สกัดจากใบกระ หล่ำปลีม่วงมาทดสอบกับเนื้อเยื่อรากหอมที่ได้รับสารโลหะหนัก โดยบ่มรากหอมใน $Pb(NO_3)_2$, $Cd(NO_3)_2$ หรือ $Cr(NO_3)_3$ ที่ความเข้มข้น 100 μM มีค่าดัชนีการแบ่งตัวไม่คงที่ คือ 58%, 39% และ 48% ตามลำดับ ค่า mitotic phase มีค่าลดลงเรื่อยๆตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น การรบกวนการแบ่งเซลล์ที่พบ คือ เกิดลักษณะของโครโมโซมไม่จัดเรียงตัวบริเวณกลางเซลล์ (c-mitosis) การจับตัวกันแน่น ของโครโมโซม (sticky) การเข้าขั้วของโครโมโซมช้ากว่าปกติ (lagging chromosome) เกิดการเชื่อมติดกันเหมือนสะพานระหว่างโครโมโซม (chromosome bridges) พบเซลล์มีนิวเครียส 2 อัน (binucleate cell) และ budding

ลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดจากสารกำจัดวัชพืช

Marcano et al., (2004) ศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช Maleic Hydrazide ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} M ที่เวลา 0, 4, 8, 12 และ 24 ชั่วโมง โดยใช้หอมหัวใหญ่เป็นพืชทดสอบ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นที่แตกต่างกันกับเวลาที่ถูกสาร มีความสัมพันธ์กันกับ Mitotic Index (MI) และการเกิดความผิดปกติของโครโมโซม ความผิดปกติที่พบ คือ stekinessis และ anaphasic bridges

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fernandes et al., (2007) ศึกษาการสร้าง micronuclei ในเซลล์ polyploidizated ของหอมหัวใหญ่ ซึ่ง trifluralin เป็นสารกำจัดวัชพืชที่ทำให้เกิดความเสียหายในการแบ่งเซลล์ ผลที่มีต่อ microtubules ทำให้พืชไม่สามารถควบคุมการแบ่งเซลล์ได้ ทำให้เกิด polyplody cell โดยทดสอบด้วยความเข้มข้นต่างๆ พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงค่า mitotic index ลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และชักนำให้เกิดการสร้าง polyplody cell, micronuclei และทำให้เซลล์ขนาดเล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. หอมหัวใหญ่

2. สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาโครโมโซม
   - เอทานอล 95%
   - เอทานอล 70%
   - สี giemsa (Merck, เยอรมัน)
   - glacial acetic acid (Merck, เยอรมัน)
   - citic acid
   - sodium citrate

3. เอนไซม์ที่ใช้ในการเตรียมโครโมโซม
   - cellulase (Fluka, สวิตเซอร์แลนด์)
   - pectinase (Fluka, สวิตเซอร์แลนด์)

4. อุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์
   - นำกลั่น
   - บีกเกอร์
   - มีด, แท่งแก้ว
   - แก้วพลาสติก
   - กระบอกตวง
   - ปากคีบปลายแหลม
   - หลอดหยด
   - ขวดแก้วขนาดเล็ก
   - หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร
   - กล่องย้อมสี

5. เครื่องมือวิทยาศาสตร์
   - ไมโครปิเปต
   - water bath

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กล้องจุลทรรศน์ (microscope) ยี่ห้อ Oylmpus รุ่น BX41 และ รุ่น CX31

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมสารเคมีสำหรับศึกษาพฤติกรรมของโครโมโซมของหอมหัวใหญ่

1.1 สารเคมีสำหรับหยุดสภาพเซลล์

ประกอบด้วยเอทานอล 95% และ glacial ในอัตราส่วน 3:1

1.2 การเตรียมเอนไซม์สำหรับย่อยเซลล์

เอนไซม์ pectinase ความเข้มข้น 3% cellulase ความเข้มข้น 4% ละลายใน citrate buffer ที่ประกอบด้วย citrate acid 0.01 mM และ sodium citrate 0.01 mM แบ่งใส่หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดละ 50 ไมโครลิตร

1.3 สีย้อมโครโมโซม

ใช้สี giemsa ความเข้มข้น 2 เปอร์เซนต์ เก็บรักษาโดยใส่ขวดสีชา หรือห่อด้วย aluminium foil ป้องกันแสง เก็บไว้ในตู้เย็น

2. วิธีการสกัดสารสกัดจากพุทธชาติก้านแดง

นำใบพุทธชาติก้านแดงมาผึ่งและอบให้แห้งด้วยอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วตัดเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปสกัดด้วยสารละลายเมทานอลโดยการแช่ใบพุทธชาติก้านแดง 100 กรัม ต่อ เมทานอล 1 ลิตร ในภาชนะปิด ตั้งไว้ที่อุณหภูมิเป็นเวลา 48 ชั่วโมง กรองสารละลายด้วยผ้ากรอง สำลี และกระดาษกรองเบอร์ 1 จะได้สารสกัดจากใบพุทธชาติก้านแดง ความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร

3. การเตรียมรากหอมหัวใหญ่

นำหอมหัวใหญ่มา 72 หัว ที่มีขนาดเท่าๆกัน ลอกเปลือกที่มีน้ำตาลออกให้หมด แล้วตัดบริเวณโคนรากออก นำไปล้างน้ำทำความสะอาด จึงนำไปแช่ในน้ำประปาให้เกิดรากความยาวประมาณ 1.5 – 2 เซนติเมตร (ประมาณ 2-3 วัน) แล้วนำไปปลูกต่อในสารละลายที่สกัดจากพุทธชาติก้านแดง ในระดับความเข้มข้นต่างๆ 12.5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm และ 400 ppm เป็นเวลา 6 ชั่วโมง 12 ชั่วโมง และ 18 ชั่วโมง ส่วนหอมหัวใหญ่ชุดควบคุมแช่ในน้ำประปาตลอดการทดลอง

4. การเตรียมรากหอมหัวใหญ่เพื่อนำมาศึกษาโครโมโซม

ใช้มีดที่มีความคมและสะอาด นำมาตัดรากหอมหัวใหญ่ที่มีความสมบูรณ์ ให้มีความยาวรากประมาณ 1-2 เซนติเมตร หัวละ 3-5 ราก ทรีทเมนต์ละ 4 หัว โดยตัดรากหอมหัวใหญ่ช่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลา 8.00 -8.30 น. และแช่ในสารเคมีเพื่อคงสภาพเซลล์ ซึ่งทำได้ 2 วิธีคือ นำปลายราก หอมหัวใหญ่ที่ได้แช่ในน้ำยา fixation เพื่อคงสภาพเซลล์ เก็บในอุณหภูมิห้อง 12 ชั่วโมง และอีกหนึ่งวิธี คือ นำปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ได้แช่ในสารเคมี เพื่อคงสภาพเซลล์ และนำไปบ่ม ที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำมาล้างด้วยเอทานอล 70% และแช่ปลายรากที่ได้ในเอทานอล 70% เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

5. การเตรียมสไลด์เพื่อศึกษาลักษณะของโครโมโซม

นำปลายรากที่เตรียมได้จากข้อ 4 มาใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตรที่ประกอบด้วยเอนไซม์ cellulase และ pectinase นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 70 นาที เมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนด เติมน้ำกลั่นลงไปในหลอดทดลองเพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ ใช้ปากคีบปลายแหลมคีบปลายรากออกจากหลอดทดลองวางบนสไลด์ ตัดรากเฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญมีสีขาวขุ่น หยดสารเคมีคงสภาพ ที่แช่เย็นลงบนสไลด์ที่ล้างด้วยเอทธานอล 95% ขยี้เซลล์ปลายรากให้ทั่วแผ่นสไลด์ รอจนสไลด์แห้ง ย้อมสีด้วยสี giemsa เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างผ่านน้ำกลั่น ผึ่งลมให้แห้ง นำสไลด์ที่ได้ มาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

6. การบันทึกผลการทดลอง

6.1 ศึกษาลักษณะความผิดปกติของโครโมโซม โดยการนับเซลล์แบบสุ่มอย่างน้อย 4000 เซลล์ ต่อ Treatment ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40x พร้อมบันทึกภาพ

6.2 สูตรในการคำนวณ

- ค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ (Mitotic index , MI)

$$(\%)\ \text{Mitotic index} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดในระยะไมโทติก}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้}} \times 100$$

- ค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ในระยะต่างๆของไมโทติก (Phase Index)

$$\text{เช่น } (\%) \text{ การแบ่งเซลล์ในระยะโพรเฟส} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ในระยะโพรเฟส}}{\text{จำนวนเซลล์ที่แบ่งตัวปกติในระยะไมโทติก}} \times 100$$

- เปอร์เซนต์เซลล์ที่มีความผิดปกติ (abnomal cell)

เช่น (%) Spindle disturbance ในระยะโพรเฟส

$$= \frac{\text{จำนวนเซลล์ผิดปกติชนิด spindle disturbance ในระยะโพรเฟส}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SAS (Statistical Analytical System) วิเคราะห์แผนการทดลองแบบ CRD โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ทำการตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละทรีตเมนต์ ทั้งหมด 7 ทรีตเมนต์ๆ ละ 4 ซ้ำ และในแต่ละสไลด์ใช้รากหอมหัวใหญ่ 2 ราก

8. เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

เวลา	เริ่มทำการทดลอง	วันที่ 20 พฤษภาคม พ.ศ. 2551
	สิ้นสุดการทดลอง	วันที่ 20 พฤศจิกายน พ.ศ. 2551
สถานที่	ห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การศึกษาผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพุทธชาติก้านแดงต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ในระยะไมโทซีส โดยใช้หอมหัวใหญ่เป็นพืชทดสอบ โดยเริ่มต้นจากการชักนำให้เกิดราก ในน้ำประปา และนำไปปลูกต่อในสารละลายที่สกัดจากพุทธชาติก้านแดง ในระดับความเข้มข้นต่างๆ 12.5, 25, 50, 100, 200 และ 400 ppm เป็นเวลา 6,12, และ18 ชั่วโมง พบว่าปลายรากของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในสารสกัดพุทธชาติก้านแดง ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 ppm มีลักษณะผิดปกติ มีสีน้ำตาลบริเวณปลายรากและรากมีลักษณะยุ่ย ผิวไม่เรียบ ในขณะที่หอมหัวใหญ่ที่แช่ในน้ำประปา ซึ่งมีลักษณะเรียวยาว ผิวเรียบ สีขาว และการศึกษาพฤติกรรมของโครโมโซมจากการนับจำนวนเซลล์ 1000 เซลล์ ต่อสไลด์ รวม 4000 เซลล์ต่อทรีทเมนต์ แสดงผลการแบ่งเซลล์ของรากหอมหัวใหญ่ที่แช่ในน้ำประปา (ชุดควบคุม) ของทั้งสามเวลาซึ่งเก็บเซลล์ที่บริเวณปลายรากในเวลาเดียวกัน พบว่าค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ทั้งสามไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อปลูกหอมหัวใหญ่ในสารสกัดพุทธชาติก้านแดงเข้มข้น 12.5 ppm เป็นเวลา 6, 12 และ18 ชั่วโมง พบว่าค่าดัชนีการแบ่งเซลล์มีค่าลดลงเพียงเล็กน้อย และไม่มีความแตกต่างกันกับชุดควบคุม เมื่อทดสอบที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น คือ 25, 50, 100, 200 และ 400 ppm ทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ที่ลดลงตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่สูงขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อปลูกหอมหัวใหญ่ในสารสกัดพุทธชาดก้านแดงเข้มข้น 400 ppm เป็นเวลา 18 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดจากพุทธชาติก้านแดงยับยั้งการแบ่งเซลล์ส่งผลให้ไม่พบการแบ่งเซลล์ในระยะไมโทซีส

เมื่อเซลล์เริ่มเข้าสู่การแบ่งเซลล์ในระยะไมโทซีส ซึ่งเริ่มจากระยะโพรเฟสเป็นระยะที่โครมาตินปรากฏให้เห็นเป็นเส้นบางๆ คล้ายกับเส้นด้าย ในช่วงระยะสุดท้ายของโพรเฟส โครมาตินหดสั้นลงและหนา (ภาพที่ 1b) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามความเข้มข้นของสารสกัดพุทธชาติก้านแดงที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า มีเปอร์เซ็นต์การแบ่งเซลล์ในระยะโพรเฟสสูงกว่าชุดควบคุม ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 400 ppm แช่สารสกัดจากพุทธชาติก้านแดงเป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การแบ่งเซลล์ สูงที่สุด คือ 95% เมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะเมทาเฟส ระยะนี้โครโมโซมจะเรียงตัวที่กึ่งกลางเซลล์ของสายสปินเดิล ตอนปลายของระยะนี้ เซนโทรเมียร์พร้อมที่จะแยกไปคนละขั้วเซลล์ (ภาพที่ 1 c) ในทรีทเมนต์ที่ได้รับสารสกัดจากพุทธชาติก้านแดง มีสัดส่วนของอัตราการแบ่งเซลล์ที่เข้าสู่ระยะเมทาเฟสลดลง ตามระยะเวลาและความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ยกเว้นในทรีทเมนต์ที่แช่รากหอมหัวใหญ่ด้วยสารสกัดพุทธชาติก้านแดง เข้มข้น 200 ppm เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบเปอร์เซนต์ของเซลล์ที่อยู่ในระยะเมทาเฟสมากที่สุด ระยะที่ 3 คือแอนาเฟสเป็นระยะที่โครมาตินเคลื่อนย้ายไปยังแต่ละขั้วของเซลล์อย่างเป็นระเบียบ โดยมีสายสปินเดิลเป็นตัวยึดแต่ละขั้วเซลล์ (ภาพที่ 1 d) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม มีอัตราการแบ่งเซลล์ที่ลดลง ตามระยะเวลาและความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น สุดท้ายคือ ระยะเทโลเฟสเป็นระยะที่สามารถเห็นผนังนิวเคลียส มีการสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผนังเซลล์ระหว่างเซลล์เดิมและเซลล์ใหม่ (ภาพที่ 1 e) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม มีอัตราการแบ่งเซลล์ที่ลดลง ตามระยะเวลาและความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารสกัดพุทธชาติก้านแดง

เมื่อศึกษาลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมบริเวณปลายรากหอมหัวใหญ่ ที่ได้รับสารสกัดจากพุทธชาติก้านแดง พบว่ามีรูปแบบความผิดปกติแบบต่างๆ คือ spindle distribution at prophase (ภาพที่ 2 a), sticky anaphase (ภาพที่ 2 b), diagonal at anaphase (ภาพที่ 2 c), delay anaphase (ภาพที่ 2 d), sticky metaphase (ภาพที่ 2 e), c-metaphase (ภาพที่ 2 f), unequal distribution (ภาพที่ 2 g), bridge anaphase (ภาพที่ 2 h), diagonal at telophase (ภาพที่ 2 i), และ non-oriented and chromosome at metaphase (ภาพที่ 2 j) และลักษณะความผิดปกติที่พบในทุกระดับความเข้มข้นและระยะเวลา คือ sticky metaphase และ c-metaphase เมื่อศึกษาจำนวนเซลล์ที่ผิดปกติทั้งหมดพบว่า เซลล์ปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ได้รับสารสกัดพุทธชาติก้านแดง มีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติทั้งหมด 0.42 - 2.36% ในขณะที่ปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ไม่ได้รับสารสกัดพุทธชาติก้านแดง พบลักษณะความผิดปกติของเซลล์ 0.1%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ค่าดัชนีการแบ่งเซลล์และสัดส่วนของเซลล์ที่เข้าสู่ไมโทติกในระยะต่างของรากหอมหัวใหญ่ ที่ปลูกในสารสกัดจากใบพุทธชาติก้านแดง

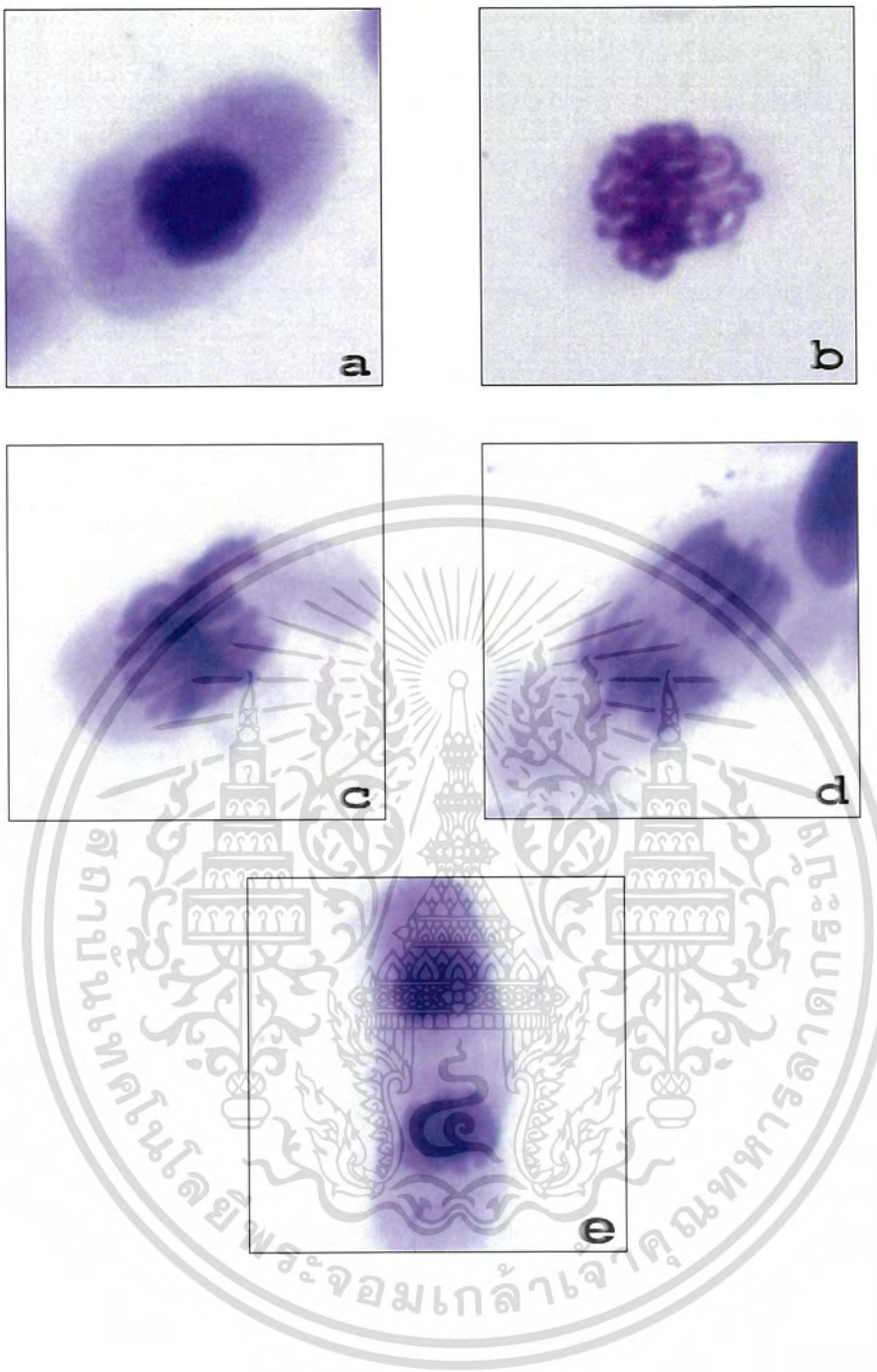
เวลา (ชม.)	ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้	ผลรวมเซลล์ในระยะไมโทซีส	Mitotic index (mean+S.E.a)	%Prophase	%Metaphase	%Anaphase	%Telophase
6	control	4,597	235	7.85 ± 4.78 ^{abc}	72.03 $^{b-e}$	18.65 ^{b}	5.19 $^{a-d}$	4.14 $^{b-f}$
	12.5	4,555	327	6.63 ± 4.92 ^{abc}	78.45 ^{bcd}	9.29 $^{b-f}$	5.40 ^{abc}	6.87 $^{a-d}$
	25	5,147	254	3.63 ± 6.61 ^{a}	79.09 ^{bcd}	14.17 $^{b-e}$	2.35 ^{cde}	4.39 $^{b-f}$
	50	4,157	303	7.43 ± 1.38 ^{bc}	81.82 ^{abc}	14.71 $^{b-e}$	3.58 $^{a-d}$	3.11 $^{c-f}$
	100	5,065	279	5.89 ± 6.98 ^{a}	86.14 ^{ab}	9.78 $^{b-f}$	2.40 ^{cde}	1.68 $^{c-f}$
	200	4,367	183	4.13 ± 3.65 ^{abc}	69.01 ^{cde}	28.56 ^{a}	1.03 ^{cde}	1.41 ^{def}
	400	4,208	179	4.59 ± 4.26 ^{abc}	81.74 ^{abc}	13.55 $^{b-e}$	3.90 $^{a-e}$	0.81 ^{ef}
12	control	5,162	274	8.50 ± 0.97 ^{bc}	63.03 ^{e}	17.39 ^{bc}	7.99 ^{a}	11.58 ^{a}
	12.5	4,750	262	4.00 ± 1.95 ^{abc}	76.51 $^{b-e}$	11.67 $^{b-e}$	4.24 $^{a-e}$	7.58 ^{abc}
	25	4,074	133	3.95 ± 2.34 ^{abc}	76.95 $^{b-e}$	12.56 $^{b-e}$	2.93 $^{b-e}$	7.57 ^{abc}
	50	4,340	127	2.67 ± 2.23 ^{abc}	78.62 ^{bcd}	11.12 $^{b-e}$	2.96 $^{b-e}$	7.30 $^{a-d}$
	100	4,316	99	2.20 ± 2.51 ^{abc}	82.62 ^{abc}	9.58 $^{b-f}$	2.08 ^{cde}	5.71 $^{b-f}$
	200	4,272	59	1.17 ± 5.92 ^{ab}	88.51 ^{ab}	5.05 ^{ef}	1.39 ^{cde}	5.05 $^{b-f}$
	400	4,236	23	0.45 ± 3.75 ^{abc}	95.00 ^{a}	5.00 ^{ef}	0.00 ^{e}	0.00 ^{f}
18	control	5,472	336	8.19 ± 4.11 ^{abc}	65.81 ^{de}	17.13 ^{bcd}	7.54 ^{ab}	9.52 ^{ab}
	12.5	4,286	152	3.08 ± 5.77 ^{ab}	86.20 ^{ab}	7.28 $^{c-f}$	0.49 ^{de}	6.02 $^{a-d}$
	25	4,782	109	2.78 ± 2.45 ^{abc}	76.67 $^{b-e}$	11.60 $^{b-e}$	1.61 ^{cde}	10.12 ^{ab}
	50	4,531	194	3.97 ± 3.73 ^{abc}	85.68 ^{ab}	7.12 ^{def}	1.53 ^{cde}	5.67 $^{b-f}$
	100	5,651	210	3.93 ± 3.87 ^{abc}	84.31 ^{ab}	7.46 $^{c-f}$	4.07 $^{a-e}$	4.16 $^{b-f}$
	200	5,131	111	2.32 ± 3.57 ^{abc}	88.72 ^{ab}	4.14 ^{ef}	2.86 $^{b-e}$	4.29 $^{b-f}$
	400	4,895	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ

ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ของแต่ละคอลัมน์ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 2 ชนิดและสัดส่วนของความผิดปกติของเซลล์บริเวณรากหอมหัวใหญ่ ที่ปลูกในสารสกัดจากใบพุทธชาติก้านแดง

เวลา (ชม.)	ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้	ผลรวมเซลล์ในระยะไมโทซีส(%)	%Spindle disturbance at late prophase	%Sticky anaphase	%Delay anaphase	%Diagonal at anaphase	%Sticky metaphase	%c-Metaphase	%Unequal distribution	%Non-oriented chromosome at metaphase	%Diagonal at Telophase	%Bridges Anaphase	%Total abnormalities
	control	4,597	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^{e}
	12.5	4,555	69	0.05	0.25	0.17	0.17	0.51	0.17	0.13	0.05	0.00	0.00	1.50 ± 0.09 $^{a-d}$
	25	5,147	76	0.31	0.04	0.10	0.10	0.63	0.08	0.06	0.04	0.04	0.00	1.38 ± 0.09 $^{a-d}$
6	50	4,157	72	0.17	0.04	0.08	0.00	0.72	0.47	0.04	0.17	0.00	0.00	1.69 ± 0.07 $^{a-d}$
	100	5,065	73	0.12	0.12	0.12	0.12	0.70	0.43	0.02	0.12	0.00	0.00	1.73 ± 0.09 $^{a-d}$
	200	4,367	75	0.09	0.08	0.07	0.09	0.98	0.32	0.11	0.09	0.02	0.00	1.87 ± 0.12 ^{abc}
	400	4,208	69	0.00	0.00	0.00	0.00	1.01	0.19	0.06	0.08	0.19	0.00	1.54 ± 0.08 $^{a-d}$
	control	5,162	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 ^{e}
	12.5	4,750	82	0.08	0.32	0.07	0.13	0.51	0.27	0.04	0.00	0.19	0.12	1.73 ± 0.07 $^{a-d}$
	25	4,074	65	0.24	0.12	0.04	0.02	0.85	0.14	0.02	0.00	0.12	0.02	1.57 ± 0.07 $^{a-d}$
12	50	4,340	61	0.14	0.09	0.02	0.00	0.90	0.07	0.00	0.16	0.02	0.00	1.40 ± 0.05 ^{bcd}
	100	4,316	45	0.25	0.14	0.05	0.02	0.50	0.02	0.00	0.00	0.05	0.00	1.04 ± 0.06 $^{a-d}$
	200	4,272	31	0.12	0.09	0.02	0.00	0.44	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.73 ± 0.03 ^{cd}
	400	4,236	18	0.09	0.00	0.00	0.00	0.28	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.42 ± 0.02 ^{cd}
	control	5,472	6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10 ± 0.02 ^{cd}
	12.5	4,286	63	0.06	0.24	0.08	0.13	0.60	0.24	0.00	0.00	0.06	0.05	1.46 ± 0.10 ^{abc}
	25	4,782	73	0.24	0.19	0.11	0.03	0.60	0.28	0.04	0.10	0.04	0.00	1.62 ± 0.14 ^{ab}
18	50	4,531	101	0.29	0.17	0.07	0.02	1.07	0.26	0.02	0.11	0.32	0.02	2.36 ± 0.16 ^{a}
	100	5,651	66	0.18	0.14	0.06	0.07	0.67	0.11	0.04	0.14	0.02	0.02	1.44 ± 0.09 $^{a-d}$
	200	5,131	35	0.07	0.04	-	0.04	0.45	0.07	0.02	0.06	0.02	0.00	0.78 ± 0.07 $^{a-d}$
	400	4,895	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ	เป็นพิษ

ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ของแต่ละคอลัมน์ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT



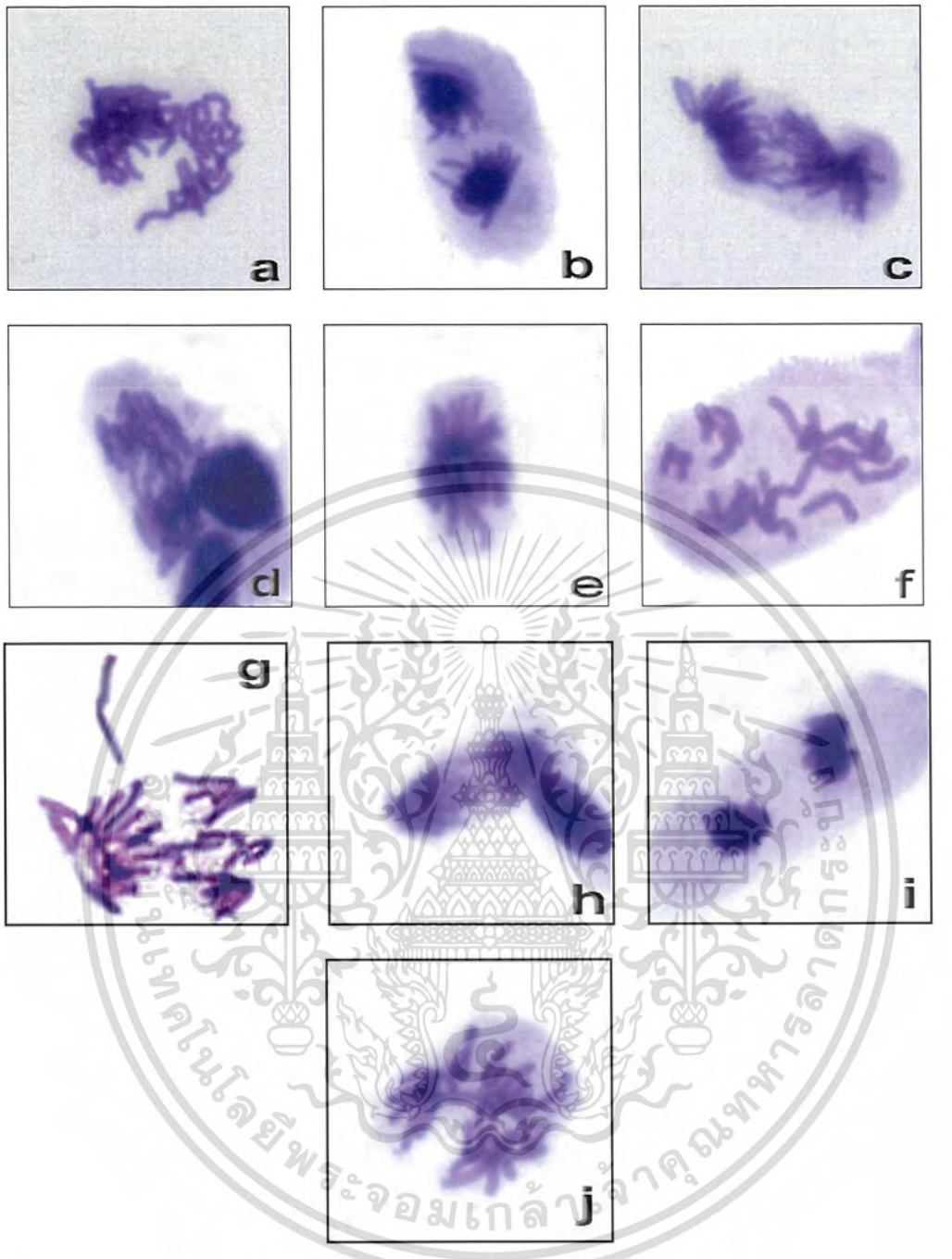
ภาพที่ 1 ลักษณะโครโมโซมปกติของรากหอมหัวใหญ่ที่เลี้ยงในน้ำประปา ที่กำลังขยาย 400 เท่า

a. Interphase b. Prophase

c. Metaphase d. Anaphase

e.Telophase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ลักษณะเซลล์ที่ผิดปกติของรากหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในน้ำสกัดพุทธชาติก้านแดงที่กำลังขยาย 400 เท่า

a. Spindle distribution at prophase
b. Sticky anaphase
c. Diagonal at anaphase
d. Delay anaphase
e. Sticky metaphase
f. c-Metaphase
g. Unequal distribution of chromosome at anaphase
h. Bridge Anaphase
i. Diagonal at Telophase
j. Non-oriented chromosome at metaphase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากพุทธชาติก้านแดงมีผลต่อการแบ่งเซลล์ในปลายรากหอมหัวใหญ่ พบว่าดัชนีการแบ่งเซลล์ที่บริเวณปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ได้รับสารสกัดจากพุทธชาติก้านแดงลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบพุทธชาดก้านแดงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของจำนวนเซลล์ที่เข้าสู่ระยะโพรเฟส เมทาเฟส แอนาเฟส และเทโลเฟส เซลล์ในระยะโพรเฟสมีอัตราเพิ่มสูงขึ้น ส่วนเซลล์ที่เข้าสู่ไมโทติกในระยะอื่นๆ มีสัดส่วนลดลง

อิทธิพลของสารสกัดจากพุทธชาติก้านแดง ทำให้เกิดลักษณะความผิดปกติของโครโมโซม ซึ่งมีสาเหตุ 2 ประการ คือ เกิดจากความผิดปกติของการขดตัวของโครโมโซม และการจัดเรียงตัวหรือการสร้างสปินเดิล ซึ่งความผิดปกติของการขดตัวของโครโมโซม เกี่ยวข้องกับการที่สารสกัดจากพุทธชาติก้านแดงมีผลต่อการเกิดโครมาติน ที่มาจากการรวมตัวของ DNA, โปรตีน histone, โปรตีนชนิด non-histone (อมรา, 2540) ทำให้เกิดลักษณะความผิดปกติของการขดตัวของโครโมโซม (sticky chromosome) สำหรับความผิดจากการเรียงตัวหรือการสร้างสปินเดิล คือการที่สารสกัดมีผลต่อ microtubules ที่จะรวมตัวกันเป็นสายใยสปินเดิล ทำให้สายใยสปินเดิลทำงานผิดปกติ ได้แก่ diagonal, bridge, unequl, non-oriented เป็นต้น (Andrade et al., 2008)

นอกจากนี้ ยังมีการรายงานที่เกี่ยวข้องกับสารกำจัดวัชพืช ที่มีผลต่อความผิดปกติของโครโมโซม กล่าวว่า สาร trifluralin ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชที่ทำให้เกิดความเสียหายในการแบ่งเซลล์ ผลที่มีต่อ microtubules ทำให้พืชไม่สามารถควบคุมการแบ่งเซลล์ได้ ทำให้เกิด polyplody cell โดยทดสอบด้วยความเข้มข้นต่างๆ พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงค่า mitotic index ลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (Fernandes et al., 2007) เช่นเดียวกับผลของการทดลองสารสกัดพุทธชาติก้านแดงที่มีผลทำให้ค่าดัชนีการแบ่งแบ่งเซลล์ลดลง

109033

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการศึกษาผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพุทธชาติก้านแดงต่อการแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากหอมหัวใหญ่ พบว่าดัชนีการแบ่งเซลล์ลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดจากใบพุทธชาติก้านแดงที่เพิ่มขึ้น และระยะเวลาที่เพิ่มจากการที่ได้รับสาร เมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะไมโทติกมีผลทำให้การแบ่งเซลล์ในระยะโพรเฟสเพิ่มขึ้น ส่วนระยะที่เหลือ ได้แก่ ระยะเมทาเฟส แอนาเฟส และเทโลเฟส มีสัดส่วนลดลง พบความผิดปกติที่เกิดจากการรบกวนสายใยสปินเดิลคือ spindle disturbance at prophase, chromosome stickiness at metaphase, c-metaphase, non-oriented chromosome, chromosome stickiness at anaphase, diagonal at anaphase, bridge anaphase, unequal distribution of chromosome and diagonal at telophase และที่เกิดจากความผิดปกติของการขดตัวของโครโมโซม คือ stickiness chromosome ซึ่งความผิดปกติของเซลล์ที่พบมากที่สุด และพบความผิดปกติของเซลล์อยู่ในระยะโพรเฟส และเมทาเฟสเป็นจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ชอุ่ม เปรมัษเฐียร. 2536. การใช้สารสกัดจากพืชควบคุมวัชพืช. วารสารกสิกร. 66(6) : 595 - 599

ดารารัตน์ มณีจันทร์. 2547. "ผลทางอัลลีโลพาทีของพุทธชาติก้านแดง." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง.

ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2540. ไม้ดอกหอม. บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ. 351 น.

รังสิต สุวรรณเขตนิคม. 2527. ความสำคัญของอะลีโลพาธี่ต่อการเกษตร. วัชพืช 2(1) : 40 – 57.

สำนักงานเกษตรจังหวัดนนทบุรี. 2548. การใช้สารสกัดจากพืชแทนสารเคมี. [online]. Availble : http://www.suanlukchan.com/discussion_taisuan.php, 15 มกราคม 2551

อมรา คัมภิรานนท์. 2540. พันธุศาสตร์ของเซลล์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 253 น.

Andrade, L.F., J.M.S. Campos and L.C. Davide. 2008. Cytogenetic alterations induced by SPL (spent potliners) in meristematic cell of plant bioassays. Ecotoxicology and Environmental Safety 71: 706-710.

Fernandes, T.C.C., D. Elisa C. Mazzeo and M. A. Marin-Morales. 2007. Mechanism of micronuclei formation. in polyploidizated cell of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. Pesticide Biochamistry and Physiology 88 : 252-259.

Glinska, S., M. Bartczak., S. Oleksiak., A. Wolska., B. Gabara., M. Posmyk and K. Janas. 2007. Effects of anthocyanin-rich extract from red cabbage leaves on meristematic cells of *Allium cepa* L. roots treated with heavy matals. Ecotoxicology and Environmental Safety 68 : 343 – 350.

Kuras, M., J. Nowakowska., E. Sliwinska., R. Pilarski., R. Ilasz., T. Tykarska., A. Zobel and K. Gulewicz. 2006. Changes in chromosome structure, mitotic actirity and nuclear DNA content from cell of *Allium* test induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (willd.) DC. Journal of Ethnopharmagology 107 : 211 – 221.

Hossain, Z., A. Kalam Azad Mandal, R. Shukla and S. Kumar Datta. 2004. Nacl stress – its chromotoxic effects and antioxidant behavior in roots of *Chrysanthemcm morifolicm* Ramatakar. Plant Science 166 : 215 – 220.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Marcano, L., I. Carruyo., A. Del Campo., and X. Montiel. 2004. Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tip of *Allium cepa* L. Environmental Research 94 : 221 - 226.

El-Ghamery, A.A., M.A. El-Kholy. And M.A. Abou El-yousser., 2003. Evaluation of cytological effects of Zn^{2+} in relation to germination and root growth of *Nigella sative* L. and *Triticum aestivum* L. Mutation Research 537 : 29 – 41.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้