

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

ผลของสารสกัดจากประยงค์ที่มีผลต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ในปลายรากหอมแดง

Cytogenetic Effect of *Aglaia odorata* Lour. Extract in Root Meristem Cells of *Allium cepa*.



ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขที่.....
เลขทะเบียน.....109024
วันเดือนปี.....-2 ค.ศ. 2553

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

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต(เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

ผลของสารสกัดจากประยงค์ที่มีผลต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ในปลายรากหอมแดง
Cytogenetic Effect of *Aglaia odorata* Lour. Extract in Root Meristem Cells of *Allium cepa*.



โดย

นางสาวธิดา โชตินวนนท์

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบโดย

(รศ.ดร. จีรฎุญ เล้าสินวัฒนา)

อาจารย์ที่ปรึกษา

วันที่ 17 เดือน ๗ พ.ศ. ๕๒

(ผศ. มณฑินี ชีรารักษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

วันที่ 17 เดือน ๗ พ.ศ. ๕๒

ภาควิชารับรองแล้ว

(รศ.ดร. สมชาย กกล้าหาญ)

หัวหน้าภาควิชาพืชสวน

วันที่ 26 เดือน ๗ พ.ศ. ๕๒

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง : ผลของสารสกัดจากประยงค์ที่มีผลต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ใน
ปลายรากหอมแดง
โดย : นางสาวธิดา โชตินวนนท์
สาขาวิชา : การจัดการสิ่งแวดล้อมพืชสวน
ภาควิชา : พืชสวน
คณะ : เทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร. จำรูญ เล้าสินวัฒนา
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. มณฑินี ธีรารักษ์

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารสกัดจากประยงค์ที่มีผลต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ในปลายรากหอมแดงต่อเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ที่เข้าสู่ mitotic phase index ในระยะต่างๆ และความผิดปกติของเซลล์ปลายรากหอมแดงที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 และ 200 ppm เป็นเวลา 18 ชั่วโมง พบว่าดัชนีการแบ่งเซลล์ที่เข้าสู่ไมโทติกเฟสในระยะต่างๆ บริเวณปลายรากหอมแดงที่ได้รับสารสกัดจากประยงค์ลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัด ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของจำนวนเซลล์ที่เข้าสู่ระยะโพรเฟส เมทาเฟส แอนาเฟส และเทโลเฟส อิทธิพลของสารสกัดจากประยงค์ ทำให้เกิดความผิดปกติของเซลล์ คือ c-mitosis, sticky metaphase, early separation, sticky anaphase, delay anaphase และยังพบว่าที่ความเข้มข้น 100 ppm มีผลทำให้การแบ่งเซลล์ในรากหอมแดงมีลักษณะโครโมโซมที่ผิดปกติมากที่สุด รองลงมาคือ ที่ระดับความเข้มข้น 12.50, 25 และ 50 ppm ตามลำดับ

Title : Cytogenetic effect of *Aglaia odorata* Lour. extract in root meristem cells of *Allium cepa*.

By : Miss Tida Chotinawanon

Major : Environmental Horticulture management

Department : Horticulture

Faculty : Agricultural Technology

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Chamroom Laosinwattana

Co-advisor : Asst. Prof. Montinee Teerarak

Abstract

The effects of cytogenetic of *Aglaia odorata* Lour. aqueous extract were examined through mitotic phase index and cell division abnormalities on the root meristem cells of shallot (*Allium cepa*) at intensity condensed level of a substance separates 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 and 200 ppm for 18 hour. The mitotic phase index in treated shallot (*Allium cepa*) root tips decreased with increasing concentrations of *Aglaia odorata* Lour. aqueous extract. 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 *Aglaia odorata* Lour. extract produced the mitotic abnormalities resulting from its action on c-mitosis, sticky metaphase, early separation, sticky anaphase, delay anaphase. The most substance is extracted from at 100 ppm intensity condensed levels in shallot (*Allium cepa*) root has abnormalities chromosome. Next be, at 12.50, 25 and 50 ppm respectively.

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้จะไม่สามารถเกิดขึ้นได้เลยถ้าไม่ได้รับคำแนะนำแนวทางการทดลองจาก รศ. ดร.จำรุณ เล่าสินวัฒนา และ ผศ. มณทิณี ชีรารักษ์ ซึ่งให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอขอบพระคุณที่ให้ความอนุเคราะห์ในทุกๆ เรื่อง ตั้งแต่เริ่มต้นจนดำเนินการทดลองปัญหาพิเศษจนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณพี่ๆ นักศึกษาปริญญาโทที่ช่วยให้คำแนะนำดีๆ ในการปฏิบัติงานในการทดลองตลอดจนคอยช่วยเหลืออำนวยความสะดวกให้เสมือนเป็นพี่น้องห้องเดียวกัน

และขอขอบพระคุณคุณแม่ตลอดจนทุกคนในครอบครัวที่คอยให้กำลังใจและคำปรึกษาในทุกๆ เรื่อง ท้ายสุดนี้ขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่ให้กำลังใจและคอยช่วยเหลือเป็นอย่างดีตลอดมา ปัญหาพิเศษฉบับนี้จะไม่สำเร็จลงได้หากขาดบุคคลดังที่กล่าวนามและไม่ได้กล่าวนามคอยให้การช่วยเหลือเป็นอย่างดี จึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ อีกครั้ง

ด้วยความเคารพอย่างสูง
นางสาวธิดา โชตินวนนท์

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญรูปภาพ	III
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	1
ตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลอง	13
วิจารณ์ผลการทดลอง	20
สรุปผลการทดลอง	21
เอกสารอ้างอิง	22



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 คำดัชนีการแบ่งเซลล์ปกติของรากหอมแดง ที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ในเวลา 18 ชั่วโมง	16
ตารางที่ 2 คำดัชนีการแบ่งเซลล์ผิดปกติของรากหอมแดง ที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ในเวลา 18 ชั่วโมง	17



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ประยงค์	2
ภาพที่ 2 วัฏจักรเซลล์	4
ภาพที่ 3 การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส	5
ภาพที่ 4 การทดสอบที่เรียกว่า Allium Test	7
ภาพที่ 5 แสดงลักษณะ โครโมโซมของหอมแดงที่ปลูกในน้ำกลั่น	18
ภาพที่ 6 แสดงลักษณะ โครโมโซมของหอมแดงที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ ที่ระดับความเข้มข้น 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 และ 200 ppm	19



คำนำ

อาชีพของประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกี่ยวกับการเกษตร ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้เป็นอาหารของประชากรภายในประเทศและมีบางส่วนที่ส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ แต่อย่างไรก็ตามอุปสรรคในการที่จะทำให้ได้ผลิตผลปริมาณมากนั้น มีมากมายหลายปัจจัย เช่น ลม ฟ้า อากาศ และปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่มีผลทำให้ผลิตผลของเกษตรกรไม่ได้เท่าที่หวังไว้คือ ปัญหาจากวัชพืช จากปัจจัยนี้เองทำให้จำเป็นต้องใช้สารเคมีเพื่อควบคุมวัชพืชชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมปฏิบัติกันอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีนั้นทำให้เกิดอันตรายและความเสียหายเป็นอย่างมากต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม

ปัจจุบันนักวิจัยได้เริ่มตระหนักถึงพิษภัยที่เกิดจากสารเคมีต่างๆ ที่ใช้ และพยายามลดการใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชและพยายามส่งเสริมให้ใช้วิธีทางธรรมชาติแทน ซึ่งในธรรมชาตินั้นพืชชนิดต่างๆจะมีความสัมพันธ์ทางด้านชีวเคมีต่อกัน ซึ่งหลังจากที่ได้มีการบัญญัติศัพท์คำว่า อัลลีโลพาตี (Allelopathy) (Rice, 1984) ขึ้นมาก็ทำให้มีนักวิจัยจำนวนมากพยายามศึกษาค้นคว้าเพื่อการพัฒนาสารชีวเคมีสำหรับใช้เป็นสารควบคุมวัชพืชแทนสารเคมีที่ใช้กันในปัจจุบัน โดยการสกัดสารจากธรรมชาติที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชจากพืชที่มีอยู่ตามธรรมชาติเพื่อนำสารสกัดที่ได้มาพัฒนาใช้เป็นสารควบคุมวัชพืชโดยตรง หรือนำมาเป็นสารต้นแบบในการสังเคราะห์สารควบคุมวัชพืช ดังนั้น ในการทำปัญหาพิเศษนี้จึงมีแนวคิดที่จะศึกษาผลของสารสกัดจากประยงค์ที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ของรากหอมแดง เป็นพืชต้นแบบในการศึกษา

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดจากประยงค์ที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ของรากหอมแดง
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการแบ่งเซลล์ความผิดปกติของ โครโมโซมที่เป็นผลมาจากสารสกัดจากประยงค์

ตรวจเอกสาร

ประวัติและข้อมูลทั่วไป

ประยงค์เป็นพืชในสกุลเดียวกับยางสาด ลองกอง เป็นต้นไม้ของประเทศไทย มักพบตามป่าเบญจพรรณทั่วไป นิยมปลูกเป็นไม้ประดับบ้าน (ภาพที่ 1)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ประยงค์เป็นไม้พุ่มขนาดย่อมถึงใหญ่ ใบมีสีเขียวเข้มและหนาเป็นมัน เป็นแบบใบรวม กลุ่มใบหนึ่งๆ จะประกอบด้วยใบย่อย 5 ใบ ลักษณะใบโค้งมนปลายแหลม ออกดอกเป็นช่อ ลักษณะดอกเป็นเม็ดกลมๆ ก้านดอกแตกเป็นกิ่งก้านสาขา ในก้านดอกหนึ่งๆ จะมีดอกตั้งแต่ 20-30 ดอก ดอกมีสีเหลืองอร่าม เกสรดอกเป็นสีขาวเล็กๆ อยู่ภายใน เมื่อดอกบานก็ยังคงเป็นเม็ดกลมๆ อยู่ มีขนาด 0.2-0.3 ซม. ดอกมีกลิ่นหอมเย็นและส่งกลิ่นไปได้ไกล ฤดูออกดอกตั้งแต่เดือนสิงหาคมถึงธันวาคม

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Aglaiia odorata* Lour.

ชื่อวงศ์ MELIACEAE

ชื่อสามัญ Chinese Rice Flower

ชื่ออื่นๆ ประยงค์, พะยงค์, ขะยง, หอมไกล

ถิ่นกำเนิด เอเชียตะวันออกเฉียงใต้

การขยายพันธุ์ เพาะเมล็ด, ตอนกิ่ง



ภาพที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ประยงค์

การปลูกและดูแลรักษา

ประยงค์สามารถขึ้นได้ดีในสภาพดินฟ้าอากาศเกือบทุกชนิดและมีความอดทนต่อความแห้งแล้งได้ดีมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัลลีโลพาที (allelopathy)

อัลลีโลพาที (allelopathy) เป็นปรากฏการณ์ที่เป็นผลกระทบจากพืชชนิดหนึ่งต่อพืชอีกชนิดหนึ่ง ทั้งที่เป็นประโยชน์และทำให้พืชชนิดนั้นเกิดความเสียหาย เช่น มีผลในการแบ่งเซลล์ การเจริญเติบโตของเซลล์สืบพันธุ์ การเคลื่อนย้ายธาตุอาหาร การสังเคราะห์แสง และการเข้าจับของเอนไซม์ โดยการที่พืชได้รับสารจากพืชชนิดอื่นนั้นอาจเป็นเพราะมีการปลูกพืชร่วมกันหรือพืชที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงกัน โดยพืชชนิดหนึ่งมีการปลดปล่อยสารเคมีจากส่วนต่างๆ ของต้นพืช โดยอาศัยวิธีชะล้าง (leaching) การซึมออกทางราก (root exudation) การระเหย (volatilization) การย่อยสลายของซากพืช (residue decomposition) อีกทั้งกระบวนการอื่นทั้งในธรรมชาติและในระบบการทำการเกษตร (Ferguson and Rathinasabapathi, 2003) แม้ว่าสารอัลลีโลพาทีที่พืชผลิตขึ้นตามธรรมชาติจะเป็นแนวทางหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการควบคุมวัชพืช เพื่อจุดประสงค์ที่จะลดค่าใช้จ่ายและเพิ่มปริมาณของผลผลิตพืช แต่ก็ยังมีข้อจำกัดอยู่หลายอย่าง เช่น มีความหลากหลายของสารในธรรมชาติมาก ปริมาณความเข้มข้นของสารที่อยู่ในส่วนต่างๆ ของต้นพืช พืชชนิดเดียวกันแต่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันก็มีปริมาณของสารแตกต่างกัน วิธีการปลดปล่อยสารของพืชแต่ละชนิด สารที่พืชแต่ละชนิดผลิตขึ้นมานั้นมีการเลือกทำลายพืชที่ได้รับอย่างเจาะจง และเวลาของการปลดปล่อยสาร (Qasem and Foy, 2001) การศึกษาเพื่อนำพืชที่มีศักยภาพทางอัลลีโลพาทีมาใช้ทดแทนสารสังเคราะห์เพื่อใช้ในการควบคุมวัชพืช สามารถนำมาใช้ได้หลายรูปแบบ เช่น การปลูกเป็นพืชแซม การใช้วัสดุคลุมดิน การคลุมเคล้ากับดินที่ใช้ปลูกพืช การใช้ปุ๋ยพืชสด ปลูกพืชหมุนเวียน ตลอดจนนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อนำเอาสารไปใช้แทนสารเคมีสังเคราะห์ แต่เนื่องจากความหลากหลายของสารธรรมชาติที่อยู่ในพืชแต่ละชนิดนั้นแตกต่างกันมาก จึงจำเป็นต้องมีการทดสอบว่าพืชชนิดใดมีศักยภาพในการยับยั้งมากที่สุด และการยับยั้งของพืชแต่ละชนิดนั้นมีผลต่อพืชที่ได้รับสารแตกต่างกันตามแต่ชนิดของพืชที่ให้และได้รับสาร และการปลดปล่อยสารของพืชแต่ละชนิดออกสู่พืชเป้าหมายก็แตกต่างกัน (Singh *et al.*, 2003)

การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส

ไมโทซิส (mitosis) เป็นกระบวนการแบ่งนิวเคลียสแบบที่ไม่มีการลดจำนวนโครโมโซมจากเซลล์แม่ 1 เซลล์ เมื่อแบ่งแบบไมโทซิสแล้วจะได้เซลล์ลูก 2 เซลล์ แต่ละเซลล์จะมีพันธุกรรมและจำนวนโครโมโซมเหมือนกับเซลล์แม่ โดยก่อนที่จะแบ่งแบบไมโททลาสซิม เซลล์แม่จะต้องมีการสร้างสารประกอบต่างๆ และมีการจำลองโครโมโซมให้เรียบร้อยเสียก่อน ระยะเวลาเตรียมการนี้เรียกว่าอินเตอร์เฟส (interphase) (ภาพที่ 3a) เป็นระยะที่ใช้เวลานานที่สุด ประกอบด้วย 3 ระยะย่อยดังนี้

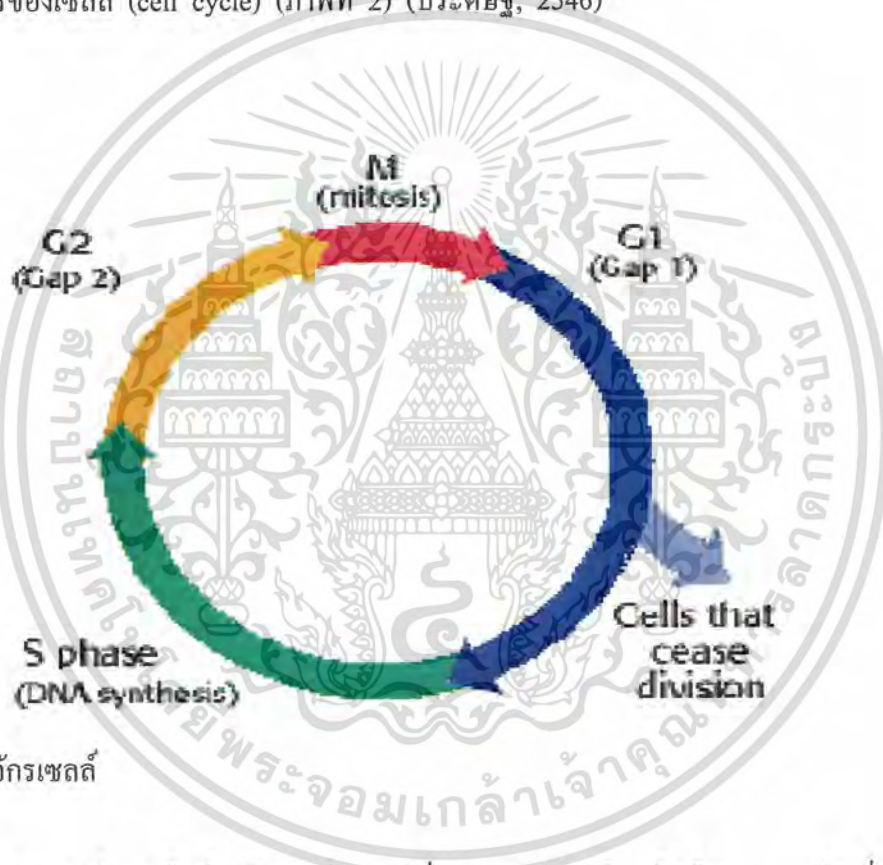
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ระยะเวลา G_1 เป็นระยะที่มีการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ (RNA) และโปรตีนต่างๆ เพื่อการจำลองตัวของแต่ละโครโมโซม

2. ระยะเวลา S เป็นระยะที่มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ โมเลกุลใหม่ และแต่ละโครโมโซมจำลองตัวเองเพิ่มจากหนึ่งเป็นสองโครมาติด

3. ระยะเวลา G_2 เป็นระยะที่มีการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ และโปรตีนที่จำเป็นสำหรับการแบ่งนิวเคลียส

เมื่อเซลล์มีการสร้างสารต่างๆเรียบร้อยแล้ว จึงจะเกิดการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ซึ่งเขียนเป็นขั้นตอนตามลำดับดังนี้ คือ G_1 -S- G_2 -ไมโทซิส เมื่อได้เซลล์ลูกเกิดขึ้นก็จะเข้าสู่วงจรนี้อีก เรียกว่า วงจรของเซลล์ (cell cycle) (ภาพที่ 2) (ประดิษฐ์, 2546)



ภาพที่ 2 วงจรเซลล์

การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสจะมีการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมแบบต่อเนื่องกันตลอดเวลา แต่สามารถจะแบ่งออกเป็นระยะต่างๆ ดังนี้ คือ

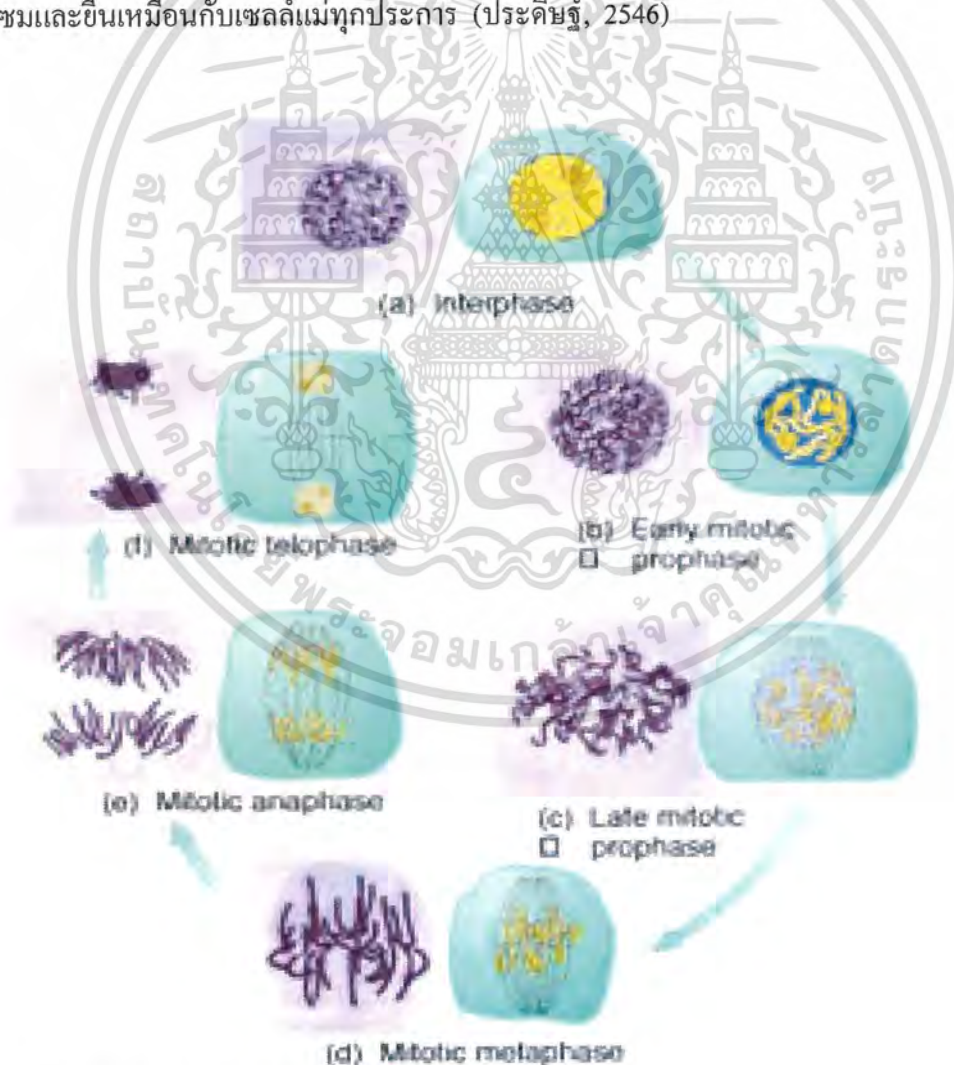
1. โพรเฟส (prophase) เป็นระยะที่โครโมโซมหดตัวสั้นเข้าและหนาขึ้น โดยการพันเกลียวของดีเอ็นเอ ทำให้เห็นโครโมโซมได้ชัดเจน(ภาพที่ 3b และ 3c) เมื่อมองดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะเห็นโครโมโซม มีลักษณะเป็นเส้นด้าย แต่ละโครโมโซมประกอบด้วย 2 โครมาติด

2. เมทาเฟส (metaphase) เชื้อหุ้มนิวเคลียสจะหายไป โครโมโซมหดตัวสั้นที่สุด แต่ละโครโมโซมจะเคลื่อนตัวมาเรียงกันที่บริเวณตรงกลางเซลล์ (equatorial plate) (ภาพที่ 3d) และเป็นระยะที่นิยมใช้นับจำนวนโครโมโซม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. แอนาเฟส (anaphase) เป็นระยะที่ใช้เวลาสั้นที่สุด เช่น โทริเมียร์ของแต่ละโครโมโซมจะแบ่งตัวจาก 1 เป็น 2 สายใยสปินเดิลดึงโครโมติดแยกออกจากกันไปยังขั้วทั้งสองของเซลล์ และทำหน้าที่เป็นโครโมโซมของเซลล์ใหม่ (ภาพที่ 3e)

4. เทโลเฟส (telophase) ระยะนี้โครโมโซมที่เหมือนกัน 2 ชุด ที่เคลื่อนไปที่ขั้วเซลล์เริ่มคลายเกลียวและยึดตัวออกเพื่อเข้าสู่ระยะอินเตอร์เฟสใหม่ นิวคลีโอไลต์เริ่มปรากฏขึ้นใหม่ พร้อมกับมีการสร้างเยื่อหุ้มนิวเคลียสมาล้อมรอบทำให้ได้นิวเคลียส 2 นิวเคลียส (ภาพที่ 3f) กระบวนการที่เกิดขึ้นกับนิวเคลียสตั้งแต่เริ่มต้นที่มีเพียง 1 นิวเคลียส จนกลายเป็น 2 นิวเคลียสนี้เรียกว่า การแบ่งนิวเคลียส (karyokinesis) หลังจากนั้นจะมีการแบ่งไซโทพลาสซึม (cytokinesis) ถ้าเป็นเซลล์ของพืชชั้นสูงทั่วไปจะมีการสร้างเซลล์เพลท (cell plate) บริเวณกลางเซลล์ เซลล์เพลทเป็นพอกเพคติน (pectin) จะแบ่งเซลล์เป็นสองเซลล์ และจะมีสารพอกเซลล์ลูโลสรวมกับเซลล์เพลทนี้ กลายเป็นผนังเซลล์ (cell wall) ใหม่ ทำให้ได้เซลล์ลูก 2 เซลล์ มีจำนวนโครโมโซมและยีนเหมือนกับเซลล์แม่ทุกประการ (ประดิษฐ์, 2546)



ภาพที่ 3 การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมโครโมโซมจากรากพืช

ในปลายรากพืชที่ได้จากการเพาะเมล็ดหรือปลูกพืช รากที่นำมาใช้ต้องสดและมีสุขภาพดี เพื่อให้เซลล์ที่มีอัตราการแบ่งตัวที่มาก นิยมใช้รากแขนง (lateral root) ลักษณะรากที่ดีมีความเปราะ โปร่งแสงและมีสีขาวขุ่น ส่วน tip หรือปลายรากมีสีขาวอมครีม ถ้าไม่สามารถหารากได้ อาจใช้เนื้อเยื่ออื่นๆที่เป็น meristematic tissue เช่น จากปลายใบอ่อน หรือส่วนของดอก เช่น ผนังรังไข่ หรือเมล็ดอ่อน ซึ่งวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับราก (อมรา, 2540)

การทดสอบความเป็นพิษด้วยวิธีการ Allium Test

การทดสอบความเป็นพิษโดยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ชั้นสูง มีวิธีการที่ใช้กันโดยทั่วไป ได้แก่ การสังเกตการเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ การยับยั้งการเจริญเติบโตของราก และการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมการทดสอบที่นิยมใช้เพื่อทดสอบถึงการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมเมื่อสัมผัสกับสารเคมี คือ การทดสอบที่เรียกว่า Allium Test ซึ่งพืชที่นำมาทดสอบ ได้แก่ พืชสกุล Allium (หอมแดง, หอมเล็ก) เช่น *Allium cepa.*, *A. Ascalonium*, *A. carinatu*, *A. fistulosum* และ *A. sativum* เนื่องจากหอมจัดเป็น bioindicator ชนิดหนึ่งในการศึกษาทางเซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetics) โดยการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมในเซลล์บริเวณปลายราก เนื่องจากมีโครโมโซมน้อยคู่ คือ 16 คู่ ($2n=16$) โครโมโซมมีขนาดใหญ่ และสามารถย้อมสีติดได้ง่าย (Krzisnik and Muratovic, 2005) วิธี Allium Test ได้ถูกนำมาประยุกต์ให้เป็นวิธีมาตรฐานในการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของลักษณะของโครโมโซม (Chromosome aberration) ที่เกิดจากสารเคมีในสิ่งแวดล้อม (ภาพที่ 4) เช่น ปุ๋ยที่ตกค้างในดินจากการทำเกษตรกรรม และโลหะหนัก ที่ปนเปื้อนมากับตะกอนน้ำเสียจากแหล่งอุตสาหกรรม วิธี Allium Test นั้นมีวิธีการทดสอบซึ่งสามารถสรุปได้สั้นๆดังนี้ คือ เริ่มจากนำตัวอย่างต้นหอม (*Allium sp.*) ต้นเล็กๆใส่ในหลอดทดลอง และเติมสารที่ต้องการทดสอบ ทิ้งไว้ 4 วัน หลังจากผ่านไป 48 ชั่วโมง เซลล์ต้นหอมจะถูกเลือกนำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อดูถึงลักษณะการแบ่งเซลล์ของบริเวณปลายราก หลังจากครบ 4 วัน ของการทดลองนำรากต้นหอมมาวัดความยาวเพื่อดูอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโต (Growth inhibition) ของสารเคมี ความยาวเฉลี่ยของรากต้นหอม ลักษณะการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ และกลไกการเกิดพิษ โดยศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ข้อมูลการเจริญเติบโตของรากต่อสารเคมีชนิดต่างๆถูกคาดประมาณกับความเป็นพิษที่เกิดต่อมนุษย์ และความผิดปกติของการแบ่งเซลล์เนื่องจากผลของสารเคมี จากการรายงาน Oliva et al. (2002) พบว่าในสารกำจัดวัชพืชหลายชนิด เช่น carbamates, mercurials chlorocyclohexan, nitrilin, maleic hydrazide และ atrazine ส่งผลกระทบต่อในทุกระยะของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ซึ่งมีผลยับยั้งการสร้าง microtubule โดยตรง

เอ็กสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Fig. 4. Allium test. Examples of onion root tips treated for 2 days at 100 mg/L of cadmium in 100 µM of mannitol.

ภาพที่ 4 การทดสอบที่เรียกว่า Allium Test

ลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดจากสารเคมี

Fernandes *et al.* (2007) ศึกษาผลของสารกำจัดวัชพืช trifluralin ต่อการเกิด micronuclei และ polyploidized ของเซลล์หอมใหญ่ ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายในการแบ่งเซลล์ ควบคุมการเกิดของ microtubules และชักนำให้ไม่สามารถควบคุมการแบ่งเซลล์ได้ ทำให้เกิด polyploidy cell และเมื่อทำการทดสอบกับรากหอมหัวใหญ่ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของ mitotic index และมีความผิดปกติของเซลล์ คือ chromosomal losses, polyploidy metaphase, nuclear buds, micronuclei และ minicell

Glinska *et al.* (2007) ได้ศึกษาความผิดปกติของเซลล์ปลาทูนาที่ทดลองปลูกใน สารละลาย $Pb(NO_3)_2$ หรือ $Cr(NO_3)_3$ ที่ความเข้มข้น 100 μM พบว่าโลหะหนักเหล่านี้มีผลต่อ เปอร์เซ็นต์การแบ่งตัวของเซลล์ (Mitotic index) ลดลง นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติที่มีผลต่อ กิจกรรมการแบ่งเซลล์ เช่น c-metaphase โครโมโซมมีลักษณะยึดติดกันแน่น (sticky) และเกิดการแบ่งตัวของโครโมโซมช้ากว่าปกติ (lagging chromosome) เกิดการเชื่อมกันเหมือนสะพาน ระหว่างโครโมโซม (chromosome bridge) มี 2 นิวเคลียสในหนึ่งเซลล์ (binucleus cell) micronuclei และ budding nuclei

Radic *et al.* (2005) ทำการศึกษาผลกระทบของ NaCl และ mannitol ที่มีผลต่อแรงดัน ออสโมติกของเซลล์เนื้อเยื่อเจริญปลาทูนาของ *Centaurea regusina* L. ได้ทำการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อพืชในอาหาร MS ที่เติม NaCl และ mannitol แล้วนำปลาทูนาไปศึกษาโครโมโซมพบว่า เกิดความผิดปกติของโครโมโซมพบการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมช้ากว่าปกติ (lagging chromosome) เกิดขั้วของสายใยสปินเดิลหลายขั้ว (multipolar spindle) เกิดโครโมโซมมีลักษณะ เป็นเกลียวขดพันกัน (chromosome spiralisation) โครโมโซมมีลักษณะยึดติดกันแน่น (stickiness) โครโมโซมเกิดการแตกหัก (breaks) และเกิดการเชื่อมต่อระหว่างโครโมโซมในระยะแอนาเฟส (anaphase briges)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Glascencnik *et al.* (2004) ทำการศึกษาการปลูกหอมแดงในไร่เปิดบน 6 พื้นที่ ที่ก่อให้เกิดมลพิษมากที่สุดในประเทศ Slovenia ช่วงฤดูกาลเพาะปลูกในปี 1999-2000 จุดมุ่งหมายในการศึกษา คือ ประเมินค่ามลภาวะทางอากาศที่มีอิทธิพลต่อการแบ่งเซลล์และความแปรปรวนความผิดปกติของโครโมโซมในเนื้อเยื่อส่วน meristematic tissue ที่ปลายรากของพืช ดัชนีการแบ่งเซลล์และความแปรปรวนของโครโมโซมที่ผิดปกติแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งความแตกต่างนี้สามารถบอกถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไอโซนและดัชนีการแบ่งเซลล์ได้อย่างชัดเจน พบว่า สารพิษที่ปรากฏบริเวณใกล้เคียงเซลล์ sampling sites เป็นสาเหตุที่ทำให้การแบ่งเซลล์ลดลง จึงส่งผลกระทบต่อความแปรปรวนของโครโมโซมที่ผิดปกติลดลงด้วย

จากการศึกษาของ Ateeq *et al.* (2002) ทำการศึกษาความผิดปกติของเซลล์ปลายรากหอมที่ได้รับผลกระทบจากการสาร pentachlorophenol, 2,4-D และ butachlor ทำให้เกิดรูปแบบความผิดปกติของโครโมโซมโดยมีรูปแบบต่างๆคือ โครโมโซมแตกหัก (Breaks) เกิดเชื่อมต่อระหว่างโครโมโซมในระยะแอนาเฟส (anaphase bridges) โครโมโซมมีลักษณะยึดติดกันแน่น (stickiness) เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมช้ากว่าปกติ เป็นผลมาจากการสร้างสายใยสปินเดิลถูกรบกวน (lagging chromosome) มีนิวเคลียส 2 นิวเคลียสในหนึ่งเซลล์ (binucleate cell)

Cifrek *et al.* (2002) ทำการศึกษาระยะละลายอิมตัวของ CaCl_2 และ CaBr_2 (ที่ความหนาแน่น 1.30 kg dm^{-3} และ 1.61 kg dm^{-3} ตามลำดับ) ผสมในอัตราส่วน 1:1 กับ สารละลายเกลือความหนาแน่นสูง ที่ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำมัน เป็นวิธีการเพิ่มจำนวนความเข้มข้นให้เหมาะสมกับ tap water ได้แก่ 0.025 , 0.05 , 0.075 และ 0.1 mol dm^{-3} เพื่อศึกษาผลของความเป็นพิษต่อเซลล์ปลายรากหอม สารละลายความเข้มข้น 0.075 และ 0.1 mol dm^{-3} ยับยั้งการเจริญเติบโตของปลายรากหอมอย่างมีนัยสำคัญ CaBr_2 มีผลต่อปลายรากที่ความเข้มข้น 0.05 mol dm^{-3} สารละลายทุกระดับความเข้มข้นสามารถนำมาประยุกต์เพื่อตรวจหาเหตุผลที่ทำให้ลดการแบ่งเซลล์ในปลายรากหอม ผลที่ตามมาพบว่าโครโมโซมที่มีความผิดปกติในการแบ่งเซลล์มากที่สุด คือ ในสายใย spindle failure เกิด stickiness นอกจากนี้ยังสามารถใช้ microtubule ตรวจหาผลของ spindle failure โดยวิธีการ indirect immunofluorescence เพื่อยืนยันความผิดปกติ อย่างไรก็ตาม แต่ก่อน *Lemna tests* และ *Chorella tests* สามารถแสดงผลการตรวจสอบหาผลกระทบต่อพืชได้อย่างชัดเจนและปรากฏให้เห็นในสิ่งแวดล้อม

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. หอมแดง
2. สารสกัดจากประยงค์
3. สารเคมีที่ใช้ศึกษาโครโมโซม
 - เอทานอล 95 %
 - เอทานอล 70 %
 - acetic acid
 - โซเดียมไฮโปคลอไรต์ 1 %
 - ี Giemsa (merck, เยอรมัน)
4. เอนไซม์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่
 - Cellulase 8 %
 - Pectinase 6 %
5. water bath
6. บีกเกอร์
7. กระบอกตวง
8. หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร
9. เทอร์โมมิเตอร์
10. ปากคีบปลายแหลม
11. หลอดหยด
12. สไลด์
13. กล้องจุลทรรศน์ (Olympus, ญี่ปุ่น)
14. แท่นพลาสติกถลอน้ำ
15. นาฬิกาจับเวลา, label
16. ก่องแก้วใส่สี่ข้อมสไลด์
17. แท่งแก้ว, ไบมัดโคน
18. น้ำกลั่น

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมสารเคมีสำหรับศึกษาพฤติกรรมของโครโมโซมของหอมแดง

1.1 การเตรียมสารคงสภาพเซลล์ (fixation)

ใช้เอทานอล 95 % และ acetic acid ในอัตราส่วน 3:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 สีย้อม

วิธีการทำโดยดวงสี Giemsa 3 มิลลิลิตร เจือจางในน้ำ 147 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน เก็บรักษาโดยใส่กล่องแก้วใสสีย้อมสไลด์ที่ห่อด้วย aluminium foil เก็บให้พ้นแสง

1.3 การเตรียมเอนไซม์สำหรับย่อยเซลล์

เอนไซม์ Cellulase ความเข้มข้น 8 %

เอนไซม์ Pectinase ความเข้มข้น 6 %

Citrate buffer

เตรียมสารสกัดจากประยงค์ ในการปลูกหอมแดง ที่มีความเข้มข้น 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 , 100 และ 200 ppm

2. การเตรียมรากหอมแดง

นำหอมแดงจำนวน 32 หัว มาปอกเปลือกและตัดบริเวณโคนรากออกเล็กน้อย นำเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 1 % นำไปปลูกในน้ำกลั่นให้เกิดรากมีความยาวประมาณ 1.5–2 เซนติเมตร (ประมาณ 2 – 3 วัน) แล้วนำไปปลูกทำการทดลองต่อในสารสกัดจากประยงค์ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

Treatment 1	กรรมวิธีการควบคุม (น้ำกลั่น)		
Treatment 2	สารสกัดจากประยงค์ เข้มข้น	3.125	ppm
Treatment 3	สารสกัดจากประยงค์ เข้มข้น	6.25	ppm
Treatment 4	สารสกัดจากประยงค์ เข้มข้น	12.5	ppm
Treatment 5	สารสกัดจากประยงค์ เข้มข้น	25	ppm
Treatment 6	สารสกัดจากประยงค์ เข้มข้น	50	ppm
Treatment 7	สารสกัดจากประยงค์ เข้มข้น	100	ppm
Treatment 8	สารสกัดจากประยงค์ เข้มข้น	200	ppm

เลี้ยงหอมแดงไว้ในสารสกัดเป็นเวลา 18 ชั่วโมง

3. การเตรียมรากหอมแดงเพื่อนำมาศึกษาโครโมโซม

ใช้ใบมีดโกนที่คมและสะอาดตัดปลายรากหอมแดงในช่วงเวลา 10 นาฬิกา โดยคัดเลือกลักษณะรากที่อวบและสมบูรณ์ ตัดรากให้มีความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร หัวละ 5 ราก ทรีทเมนต์ละ 4 หัว นำปลายรากที่ได้แช่ในสารเคมีคงสภาพเซลล์ (fixation) ที่ประกอบด้วย เอทานอล 95 % และ acetic acid ในอัตราส่วน 3:1 ในขวด vial ขนาด 5 ml แช่ปลายรากในสารเคมีเพื่อคงสภาพเซลล์ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8–12 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำมาล้างด้วยเอทานอล 70 % 2 ครั้ง เก็บปลายรากในเอทานอล 70 % และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นเพื่อศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การเตรียมสไลด์เพื่อศึกษาโครโมโซมด้วยวิธีการย่อยด้วยเอนไซม์

4.1 ล้างสไลด์ด้วยแอลกอฮอล์ 95 % ผึ่งให้แห้ง

4.2 นำปลายรากที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นประมาณ 2 ราก มาล้างน้ำกลั่น ชับน้ำให้แห้ง ตัดรากให้มีความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำมาย่อยผนังเซลล์โดยใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่ประกอบด้วยเอนไซม์ Cellulase 8 %, Pectinase 6 % และ citrate buffer นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.30 ชั่วโมง

4.3 เมื่อครบกำหนด ตูดเอนไซม์ออกจากหลอดทดลอง และเติมน้ำกลั่นลงในหลอดทดลองเพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์

4.4 ใช้ปากคีบปลายแหลมคีบปลายรากออกจากหลอดทดลอง ชับน้ำออก วางบนสไลด์หยดน้ำยา fixation ที่แช่เย็นลงไป

4.5 ขยี้เซลล์ปลายรากให้ทั่วแผ่นสไลด์ด้วยปากคีบปลายแหลม ทิ้งไว้ให้แห้ง

4.6 เมื่อสไลด์แห้ง นำมาย้อมสี Giemsa เป็นเวลา 10 นาที

4.7 ครบ 10 นาที นำสไลด์ไปล้างผ่านน้ำสะอาด โดยเปิดน้ำไหลผ่านเบาๆ

4.8 ผึ่งสไลด์ให้แห้ง นำสไลด์มาศึกษาการแบ่งเซลล์ของรากหอมแดงภายใต้กล้องจุลทรรศน์

5. การบันทึกผลการทดลอง

5.1 ศึกษาพฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และบันทึกภาพจำนวนเซลล์ นับระยะต่างๆของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส นำมาคำนวณค่าดังต่อไปนี้

$$\text{Mitotic phase index (\%)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ในระยะของไมโทซิส}}{\text{จำนวนเซลล์ที่มีการแบ่งตัว}} \times 100$$

$$\text{Abnormal chromosome (\%)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่ผิดปกติแต่ละชนิด}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับ}} \times 100$$

5.2 นำข้อมูลที่ได้จากการคำนวณไปวิเคราะห์หาความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

6. สถานที่ทำการทดลอง

เวลา	เริ่มทำการทดลองเดือนเมษายน 2550
	สิ้นสุดการทดลองเดือนตุลาคม 2551
สถานที่	ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ผลกระทบต่อพฤติกรรมของโครโมโซมที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ในความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งใช้เซลล์ปลายรากหอมแดงเป็นพืชทดสอบ มีการทดลองดังนี้

ในการทดสอบโดยการปลูกหอมแดงในน้ำกลั่นเป็นเวลา 2 วัน จึงย้ายมาปลูกในสารสกัดจากประยงค์เข้มข้น 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 และ 200 ppm ในแต่ละความเข้มข้นใช้หอมแดงจำนวน 4 หัว ปลูกในสารสกัดจากประยงค์เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ผลการศึกษาพฤติกรรมของโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ได้ทำการนับเซลล์จำนวน 1,000 เซลล์ต่อสไลด์ จำนวน 4 สไลด์ รวมทั้งหมด 4,000 เซลล์ต่อทริทเมนต์ แสดงผลของเซลล์รากหอมแดงที่เลี้ยงในน้ำกลั่นเมื่อเริ่มเข้าสู่ระยะไมโทซิส ในระยะแรกของไมโทซิสคือระยะอินเตอร์เฟส (ภาพที่ 5a) ซึ่งในการทดลองเกิดความผิดพลาดในการนับเซลล์จึงไม่มีผลการทดลองในตาราง ส่วนในระยะเออร์โฟเฟส (ภาพที่ 5b) เป็นระยะเริ่มแรกในการแบ่งเซลล์ในระยะโปรเฟสซึ่งนำมาคำนวณรวมกับระยะโปรเฟส ซึ่งระยะโปรเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 88.52 % (ตารางที่ 1) โครมาตินปรากฏเห็นสั้นบางๆ พันกันคล้ายเส้นด้าย (ภาพที่ 5c) ระยะต่อมาเกิดการแบ่งเซลล์ระยะเมทาเฟส 6.71 % เป็นระยะที่โครโมโซมจะหนาและมารวมตัวกันอยู่บริเวณกึ่งกลางเซลล์ (ภาพที่ 5d) ระยะที่ 3 คือระยะแอนาเฟส 1.40 % เป็นระยะที่โครมาตินจะเคลื่อนย้ายไปยังแต่ละขั้วเซลล์อย่างเป็นระเบียบ โดยมีสายใยสปินเดิลเป็นตัวยึดที่แต่ละขั้วเซลล์ (ภาพที่ 5e) และระยะสุดท้ายคือ ระยะเทโลเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 3.38 % เป็นระยะที่สามารถเห็นนิวเคลียส 2 นิวเคลียส มีการสร้างผนังเซลล์ระหว่างเซลล์เดิมกับเซลล์ใหม่ (ภาพที่ 5f) ปลายรากหอมแดงที่ปลูกลงในสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 3.125 ppm ระยะโปรเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 91.26 % ระยะเมทาเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 4.96 % ระยะแอนาเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 1.92 % และระยะเทโลเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 1.87 % ปลายรากหอมแดงที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 6.25 ppm ระยะโปรเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 93.59 % ระยะเมทาเฟสมีค่าแบ่งเซลล์ 4.80 % ระยะแอนาเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 0.43 % และระยะเทโลเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 1.18 % ปลายรากหอมแดงที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 12.5 ppm ระยะโปรเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 94.86 % ระยะเมทาเฟสมีค่าแบ่งเซลล์ 4.21 % ระยะแอนาเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 0.00 % และระยะเทโลเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 0.93 % ปลายรากหอมแดงที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm ระยะโปรเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 96.50 % ระยะเมทาเฟสมีค่าแบ่งเซลล์ 3.41 % ระยะแอนาเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 0.09 % และระยะเทโลเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 0.00 % ปลายรากหอมแดงที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 50 ppm ระยะโปรเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 96.48 % ระยะเมทาเฟสมีค่าแบ่งเซลล์ 2.40 % ระยะแอนาเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 0.33 % และระยะเทโลเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 0.78 % ปลายรากหอมแดงที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ระยะโปรเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 94.32 % ระยะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมทาเฟสมีค่าแบ่งเซลล์ 5.10 % ระยะแอนาเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 0.00 % และระยะเทโลเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 0.58 % ปลายรากหอมแดงที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm ระยะโพรเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 98.15 % ระยะเมทาเฟสมีค่าแบ่งเซลล์ 1.68 % ระยะแอนาเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 0.00 % และระยะเทโลเฟสมีค่าการแบ่งเซลล์ 0.18 % ค่า mitotic phase ของแต่ละทริทเมนต์มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารสกัดจากประยงค์ สำหรับในระยะโพรเฟส เมทาเฟส แอนาเฟส และเทโลเฟสมีแนวโน้มว่าค่าการแบ่งตัวจะลดลงเรื่อยๆตามความเข้มข้นของสารสกัดจากประยงค์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 12.5 ppm - 200 ppm การแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟส แอนาเฟส และเทโลเฟสมีจำนวนน้อยมาก และพบลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมของปลายรากหอมแดงที่เลี้ยงในน้ำกลั่น คือ ระยะสติกกี้เมทาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 2.24 % (ตารางที่ 2) โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะเมทาเฟส (ภาพที่ 6b) พบลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมของปลายรากหอมแดงที่ได้รับสารสกัดจากประยงค์ โดยมีรูปแบบความผิดปกติแบบต่างๆ คือ ที่ระดับความเข้มข้น 3.125 ppm ระยะซีไมโทซิสมีการแบ่งเซลล์ 17.00 % โครโมโซมที่มีลักษณะกระจัดกระจายไม่รวมอยู่ตรงกลางเซลล์ (ภาพที่ 6a) ระยะสติกกี้แอนาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 0.31 % โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะแอนาเฟส (ภาพที่ 6d) ระยะคิเลียแอนาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 1.17 % โครโมโซมบางส่วนมีการเชื่อมต่อกันคล้ายสะพานพบในระยะแอนาเฟส (ภาพที่ 6e) ที่ระดับความเข้มข้น 6.25 ppm ระยะซีไมโทซิสมีการแบ่งเซลล์ 0.39 % โครโมโซมที่มีลักษณะกระจัดกระจายไม่รวมอยู่ตรงกลางเซลล์ (ภาพที่ 6a) ระยะสติกกี้เมทาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 19.76 % โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะเมทาเฟส (ภาพที่ 6b) ระยะสติกกี้แอนาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 0.29 % โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะแอนาเฟส (ภาพที่ 6d) ระยะคิเลียแอนาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 1.28 % โครโมโซมบางส่วนมีการเชื่อมต่อกันคล้ายสะพานพบในระยะแอนาเฟส (ภาพที่ 6e) ที่ระดับความเข้มข้น 12.5 ppm ระยะซีไมโทซิสมีการแบ่งเซลล์ 0.26 % โครโมโซมที่มีลักษณะกระจัดกระจายไม่รวมอยู่ตรงกลางเซลล์ (ภาพที่ 6a) ระยะสติกกี้เมทาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 18.32 % โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะเมทาเฟส (ภาพที่ 6b) ระยะเออริเชปาระชันมีการแบ่งเซลล์ 0.39 % มีโครโมโซมบางส่วนที่เริ่มแบ่งเซลล์ก่อน (ภาพที่ 6c) ระยะสติกกี้แอนาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 0.32 % โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะแอนาเฟส (ภาพที่ 6d) ระยะคิเลียแอนาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 0.92 % ที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm ระยะสติกกี้เมทาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 15.06 % โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะเมทาเฟส (ภาพที่ 6b) ระยะสติกกี้แอนาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 0.18 % โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะแอนาเฟส (ภาพที่ 6d) ระยะคิเลียแอนาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 0.46 % โครโมโซมบางส่วนมีการเชื่อมต่อกันคล้ายสะพานพบในระยะแอนาเฟส (ภาพที่ 6e) ที่ระดับความเข้มข้น 50 ppm ระยะสติกกี้เมทาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 15.56 % โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะเมทาเฟส (ภาพที่ 6b) ระยะสติกกี้แอนาเฟสมีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบ่งเซลล์ 0.08 % โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะแอนาเฟส (ภาพที่ 6d) ระยะดีเลย์แอนาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 0.08 % โครโมโซมบางส่วนมีการเชื่อมต่อกันคล้ายสะพานพบในระยะแอนาเฟส (ภาพที่ 6e) ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm ระยะซีไมโทซิสมีการแบ่งเซลล์ 0.35 % โครโมโซมมีลักษณะกระจัดกระจายไม่รวมอยู่ตรงกลางเซลล์ (ภาพที่ 6a) ระยะสติคกี้เมทาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 8.42 % โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะเมทาเฟส (ภาพที่ 6b) ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm ระยะสติคกี้เมทาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 3.67 % โครโมโซมที่มีลักษณะอัดแน่นในระยะเมทาเฟส (ภาพที่ 6b) ระยะดีเลย์แอนาเฟสมีการแบ่งเซลล์ 0.33 % โครโมโซมบางส่วนมีการเชื่อมต่อกันคล้ายสะพานพบในระยะแอนาเฟส (ภาพที่ 6e)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ปกติของรากหอมแดง ที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ในเวลา 18 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนเซลล์ที่แบ่งตัว	%prophase	%metaphase	%anaphase	%telophase
control	532	88.52 ^c <u>1/</u>	6.71 ^a	1.40 ^{ab}	3.38 ^a
3.125	737	91.26 ^{bc}	4.96 ^a	1.92 ^a	1.87 ^b
6.25	932	93.59 ^{abc}	4.80 ^a	0.43 ^{bc}	1.18 ^{bc}
12.5	912	94.86 ^{ab}	4.21 ^a	0.00 ^c	0.93 ^{bc}
25	918	96.50 ^{ab}	3.41 ^a	0.09 ^c	0.00 ^c
50	932	96.48 ^{ab}	2.40 ^a	0.33 ^c	0.78 ^{bc}
100	451	94.32 ^{abc}	5.10 ^a	0.00 ^c	0.58 ^c
200	413	98.15 ^a	1.68 ^a	0.00 ^c	0.18 ^c

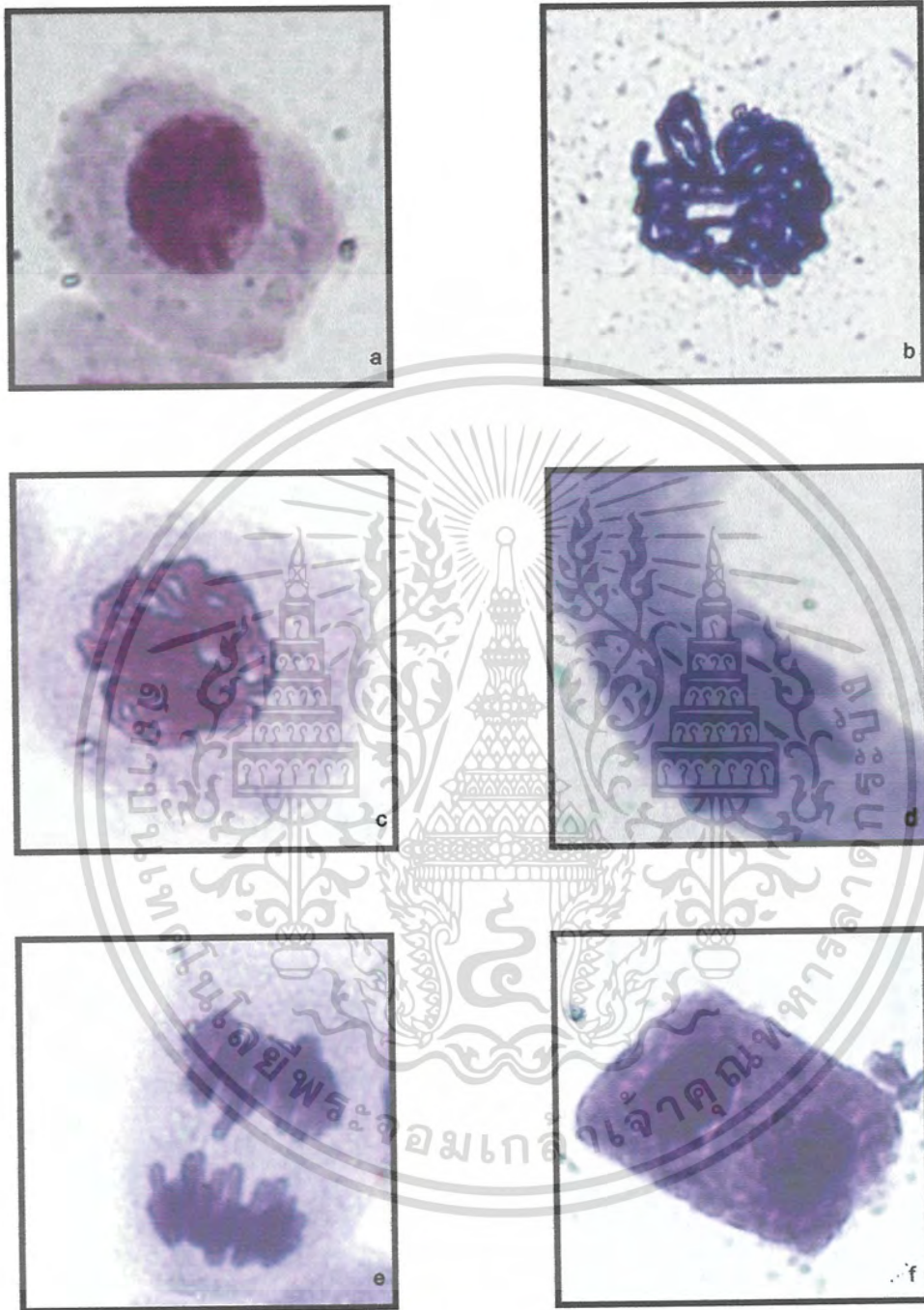
1/ ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ของแต่ละคอลัมน์ ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 2 ค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ผิดปกติของรากหอมแดง ที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์ในเวลา 18 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนเซลล์ ผิดปกติ	%c-mitosis	%sticky metaphase	%early separation	%sticky anaphase	%delay anaphase	Total abnormal(mean±S.E.)
control	13	0.00	2.24	0.00	0.00	0.00	2.24±0.99 ^c <i>1/</i>
3.125	122	0.48	17.00	0.00	0.31	1.17	18.96±10.31 ^{ab}
6.25	208	0.39	19.76	0.00	0.29	1.28	21.72±9.23 ^a
12.5	185	0.26	18.32	0.39	0.32	0.92	20.21±7.65 ^a
25	155	0.00	15.06	0.00	0.18	0.46	15.70±6.40 ^{abc}
50	140	0.00	15.56	0.00	0.08	0.08	15.72±6.84 ^{abc}
100	30	0.35	8.42	0.00	0.00	0.00	8.77±4.33 ^{abc}
200	14	0.00	3.67	0.00	0.00	0.33	4.00±1.87 ^{bc}

1/ ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ของแต่ละคอลัมน์ ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

109024



ภาพที่ 5 แสดงลักษณะโครโมโซมของหอมแดงที่ปลูกในน้ำกลั่น

A. Interphase

B. Earlyprophese

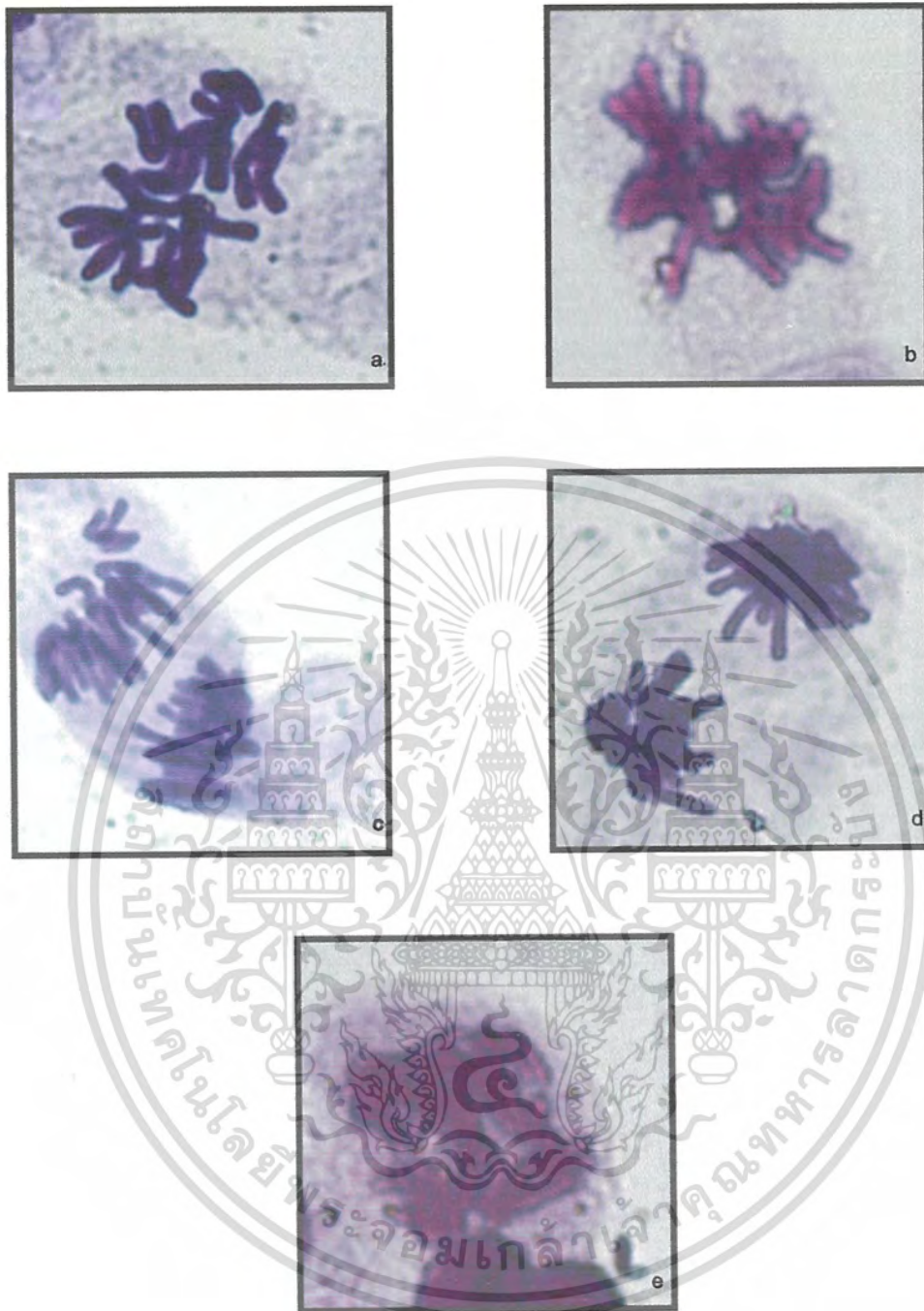
C. Prophase

D. Metaphase

E. Anaphase

F. Telophase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 แสดงลักษณะ โครโมโซมของหอมแดงที่ปลูกในสารสกัดจากประยงค์เข้มข้น

3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 และ 200 ppm

A. C-mitosis

B. Sticky metaphase

C. Early separation

D. Sticky anaphase

E. Delay anaphase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

อัลลีโลพาที (Allelopathy) คือปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างพืช ซึ่งพืชจะปลดปล่อยสารบางอย่างออกมาแล้วมีผลกระทบต่อการงอก การเจริญเติบโตจนถึงให้ผลผลิตของพืชทั่วไป (พรชัย, 2540) อัตราการเจริญเติบโตของรากลดลงตามระดับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ทั้งนี้เนื่องจากความเป็นพิษของธาตุ Na และความเครียดออสโมติก (osmotic stress) มีผลทำให้รากคุดน้ำ และธาตุอาหารได้น้อยลง ทำให้การเจริญเติบโตของราก ลำต้น และใบลดลงไปด้วย (เล็ก, 2540) ลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่ศึกษา คือ c-mitosis, sticky metaphase, early separation, sticky anaphase, delay anaphase จากรายงานของ Fernandes *et al.* (2007) ศึกษาผลของสารกำจัดวัชพืช trifluralin ต่อการเกิด micronuclei และ polyploidized ของเซลล์หอมใหญ่ ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายในการแบ่งเซลล์ ควบคุมการเกิดของ microtubules และชักนำให้ไม่สามารถควบคุมการแบ่งเซลล์ได้ ทำให้เกิด polyploidy cell และเมื่อทำการทดสอบกับรากหอมหัวใหญ่ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของ mitotic index และมีความผิดปกติของเซลล์ คือ chromosomal losses, polyploidy metaphase, nuclear buds, micronuclei และ minicell (Chandra *et al.* 2005) ทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกและเลี้ยงในบริเวณโรงงานผลิตโลหะหนักและโรงงานสีย้อมผ้า ซึ่งมีสารตกค้างๆ เช่น chromium, nickel, copper, manganese, zinc และ cadmium อยู่พบว่าเมื่อปลูกหอมหัวใหญ่ทั้งในดินและเลี้ยงลงรากในน้ำ เมื่อนำปลายรากหอมมาศึกษาโครโมโซมพบว่าเกิดการผิดปกติกับหอมหัวใหญ่ที่ปลูกบริเวณ โรงงานผลิตโลหะหนักมากกว่าโรงงานผลิตสีย้อมผ้า คือ เกิดการแตกหักของโครโมโซม (chromosome breaks) เกิดความผิดปกติในระยะแอนาเฟส (aberrant anaphase) เกิดการจับตัวกันแน่นของโครโมโซม (stickiness) เกิดขั้วของสายใยสปินเดิลหลายขั้ว (multipolar spindle) เกิดการแบ่งตัวของโครโมโซมช้ากว่าปกติเป็นผลมาจากการสร้างสายใยสปินเดิลเกิดช้า (lagging chromosome) เกิดการเชื่อมติดกันเหมือนสะพานระหว่างโครโมโซม (chromosome bridge) และจำนวนโครโมโซมแต่ละขั้วเซลล์ไม่เท่ากัน (unequal)

สรุปผลการทดลอง

ในการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากประยงค์โดยวิธีการ Allium test พบว่า ค่าดัชนีการแบ่งตัวของเซลล์มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารสกัดจากประยงค์ ในทุกความเข้มข้นของสารสกัดจากประยงค์มีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์ในระยะ mitotic phase index ความผิดปกติของโครโมโซมที่พบในการศึกษา คือ c-mitosis, sticky metaphase, early separation, sticky anaphase, delay anaphase ความผิดปกติของโครโมโซมที่ได้รับสารสกัดจากประยงค์ที่พบมากที่สุด คือ ที่ระดับความเข้มข้น 6.25 ppm พบ sticky metaphase มีการแบ่งเซลล์ถึง 19.76 % ความผิดปกติของโครโมโซมที่ได้รับสารสกัดจากประยงค์แบบที่พบน้อยที่สุด คือ ที่ระดับความเข้มข้น 50 ppm พบ sticky anaphase และ delay anaphase มีการแบ่งเซลล์ถึง 0.08 % ที่ระดับความเข้มข้น 12.5 ppm พบความผิดปกติของโครโมโซมทุกระยะการแบ่งเซลล์ และที่ระดับความเข้มข้น 6.25 ppm พบความผิดปกติของโครโมโซมที่ได้รับสารสกัดจากประยงค์มี Total abnormal 21.72 % ซึ่งมากกว่าทุกความเข้มข้น



เอกสารอ้างอิง

- นพพล เกตุประสาท และ ไพโร มัทธวรรค์. 2549. งานเรือนปลูกพืชทดลอง ฝ่ายปฏิบัติการวิจัย และเรือนปลูกพืชทดลอง. แหล่งที่มา : <http://www.clgc.rdi.ku.ac.th>, 1 มีนาคม 2552.
- ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2546. พันธุศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 398 น.
- เล็ก มอญเจริญ. 2540. ความเค็มกับการเจริญเติบโตของพืช, น. 259-268. ใน สมศรี อรุณินท์, ผู้รวบรวม. ดินเค็ม. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตร และสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- อมรา คัมภีวานนท์. 2540. พันธุศาสตร์เซลล์. เท็กซัสแอนเจอร์นัลพับลิเคชัน, กรุงเทพฯ. 308 น.
- อารีย์ สุวรรณपाल. 2550. การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส. แหล่งที่มา : <http://www.bangkapi.ac.th>, 1 มีนาคม 2552.
- Ateeq, B., M.A. Farah, M.N. Ail and W. Ahmad. 2001. Clastogenicity of pentachlorophenol, 2,4-D and butachlor Evaluated *Allium* root tip test. Mutation Research 514 : 105-113.
- Chandra, S., L.K.S. Chauhan, R.C. Murthy, P.N. Pande and S.K.Gupta. 2005. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. Environmental and Experimental Botany 347:46-52.
- Cifrek, Z.V., M. Pavlica, I. Regula and D. Papes. 2002. Cytogenetic Damage in Shallot (*Allium cepa*.) Root Meristems Induced by Oil Industry "High-Density Brines". Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 43:284-291.
- Ferguson, J.J. and B. Rathinasabapathi. 2003. Allelopathy: how Suppress Other Plants. HS944. IFAS Extension, University of Florida [online]. Available : <http://edis.ifas.ufl.edu>.
- Fernandes, T.C.C., D.E.C. Mazzeo and M.A. Marin-morales. 2007. Mechanism of Micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to Trifluralin herbicide. Pesticide Biochemistry and Physiology 88 : 252-259.
- Glasencnik, E., C. Ribaric-Lasnik, K. Savinek, M. Zalubersek, M. Mueller and F. Batic. 2004. Impact of Air Pollution on Genetic Material of Shallot (*Allium cepa* L. var. *ascalonicum*) Exposed at Differently Polluted Sites in Slovenia. Journal of Atmospheric Chemistry 49 : 363-376.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 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 metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68 : 343-350.
- Krzisnik, N. and S. Muratovic. 2005. Selection of plant bioindicators for cytogenetic bioassays of pollution. *Project Summeries for 2004/05. PD0405EN 22* : 265-270.
- Oliva, A., R. M. Moraes, S.B. Watson, S.O. Duke and F.E. Dayan. 2002. Aryltetralin Lignans inhibit plant growth by affecting the formation Of mitotic microtubular Organizing centers. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 72 : 45-54.
- Qasem, J.R. and C.L. Foy, 2001. "Weed Allelopathy, Its Ecological Impacts and Future Prospect : A Review." 43-119. In Kohli, R.K., Singh, H.P. and Batish, D.R. (eds). *Allelopathy in Agroecosystems*. New York : Food Products Press.
- Radic, S.M. Prolic, M. Pavlica and B. Pevalek-Kozlina. 2005. Cytogenic effects of Osmotic stress on the roor meristem cell of *Centaurea ragusina* L. *Environmental and Experimental Botany* 54:213-218.
- Rice, E.L. 1984. *Allelopathy*. 2nd edition. Academic Press. Inc. Olendo.
- Singh, H.P., D.R. Batish, and R.K. Kohli, 2003. "Allelopathic Interactions and Allelochemicals:New Possibilities for Sustainable Weed Management." *Critical Reviews in Plant Science* 22 : 239-311.