วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 28:2(83-89)

ผลของสารกำจัดวัชพืช อะลาคลอร์ ต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ของหอมหัวใหญ่

Cytogenetic Effects of Alachlor Herbicide on Root Tip Cells of *Allium cepa* L.

มณทินี ธีรารักษ์[1] และจันทณี สนธิ[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ ต่อดัชนีการแบ่งเซลล์ เปอร์เซนต์ของเซลล์ที่เข้าสู่ไมโทติกระยะต่างๆ และความผิดปกติของเซลล์ปลายรากหอมหัวใหญ่ ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 1.25-20 ppm เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าดัชนีการแบ่งเซลล์ที่บริเวณปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ได้รับสารอะลาคลอร์ลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของจำนวนเซลล์ที่เข้าสู่ระยะโปรเฟส เมทาเฟส แอนาเฟส และเทโลเฟส เซลล์ในระยะโปรเฟสมีอัตราเพิ่มสูงขึ้น ส่วนเซลล์ที่เข้าสู่ไมโทติกในระยะอื่น ๆ มีสัดส่วนลดลง อิทธิพลของสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ทำให้เกิดความผิดปกติในการขดตัวของโครโมโซม และรบกวนการสร้างสายสปินเดิล แสดงถึงความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ ต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ของรากหอมหัวใหญ่

คำสำคัญ : สารกำจัดวัชพืช อะลาคลอร์ ความผิดปกติของโครโมโซม

Abstract

In the present study, cytogenetic effects of alachlor herbicide were examined through the root meristem cells of *Allium cepa* L. (onion). Five concentrations of Alachlor herbicide (1.25 to 20 ppm) were applied for 12 h. The mitotic index in treated onion root tips decreased with increasing concentrations of alachlor. In addition, the mitotic phase index was altered in onion incubated with alachlor. 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. Alachlor also produced the mitotic abnormalities resulting from its action on chromatin organization and mitotic spindle. It is clear from the results of the present study that Alachlor is cytotoxic on meristematic cells of the onion plant.

Keywords : Herbicide, Alachlor, Chromosome aberration

คำนำ

ปัจจุบันเกษตรกรที่ทำการเกษตรต้องประสบปัญหาด้านสภาพดิน ฟ้า อากาศ ราคาผลผลิตไม่แน่นอน จึงต้องอาศัยสารเคมีต่าง ๆ มาช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรให้สูงขึ้น ได้แก่ ปุ๋ย ฮอร์โมน และสารกำจัดศัตรูพืช เป็นต้น โดยในปี พ.ศ. 2537-2550 การนำเข้าสารเคมีมีปริมาณที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากข้อมูลปี พ.ศ. 2550 มีการนำเข้าถึง 116,322 ตัน ซึ่งสารเคมีที่มีการนำเข้าสูงสุด คือ สารกำจัดวัชพืช รองลงมาคือ สารกำจัดแมลง และสารกำจัดเชื้อรา ตามลำดับ สารเหล่านี้มีผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมถึงแม้ใช้ในปริมาณน้อยก็ตาม โดยก่อให้เกิดการปนเปื้อน และเป็นอันตรายต่อพืชปลูกซึ่งส่วนใหญ่มักมีการปนเปื้อนมาตั้งแต่แหล่งเพาะปลูก และอาจเกิดจากการตกค้างของสารเคมีสู่ผลผลิตทางการเกษตร (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) สารกำจัดวัชพืชเป็นวัตถุอันตราย ที่ระบุไว้ใน

[1]สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พระราชบัญญัติวัตถุอันตราย ปี พ.ศ. 2535 ของประเทศไทย การควบคุมวัชพืชเป็นวิธีหนึ่งในการอารักขาพืช การใช้สารเคมีต่างๆ ในการควบคุมวัชพืช เป็นวิธีที่ง่ายและเห็นผลได้เร็วกว่าการใช้สารสกัดจากธรรมชาติ (ธวัชชัย, 2540) ขณะเดียวกันการใช้สารกำจัดวัชพืชก็จึงเป็นสิ่งที่จำเป็นต่อการเพิ่มปริมาณผลผลิตทางการเกษตรอย่างหลีกเลี่ยงได้ยากยิ่ง

อะลาคลอร์ (alachlor) เป็นสารกำจัดวัชพืชจัดอยู่ในกลุ่มสารเคมี chloroacetamide มีคุณสมบัติในการเลือกทำลาย (selective) เกษตรกรจำนวนมากนิยมใช้ในควบคุมกำจัดวัชพืชวงศ์หญ้าประเภทล้มลุกเป็นส่วนใหญ่ และวัชพืชใบกว้างหลายชนิด รวมทั้งวัชพืชวงศ์กก เช่น แห้วหมูในพืชปลูกพวกข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วเหลือง ฝ้าย มัน สำปะหลัง ทานตะวัน ยาสูบ มะเขือเทศ อ้อย ยางพารา และพืชผักอีกหลายชนิด (พรชัย, 2531) ซึ่งผลผลิตทางเกษตรเหล่านี้ล้วนจำเป็นต้องใช้สารเคมีต่าง ๆ เพื่อมาช่วยป้องกันกำจัดศัตรูพืช หากนำมาใช้ในปริมาณที่มากเกินไปทำให้เกิดการตกค้างในผลผลิตทางการเกษตร ดิน และแหล่งน้ำ อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต สิ่งแวดล้อม รวมถึงผู้บริโภคด้วย และยากต่อการหาปริมาณสารตกค้างที่เกิดขึ้นในดิน ในแหล่งน้ำที่ใช้ในการเพาะปลูก การวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืชที่ตกค้างในน้ำใช้โดยวิธี Gas Chromatography เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์หาปริมาณสารตกค้างจากสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ โบรมาซิล (bromacil) ฟีนอกซาพรอป-พี-เอธทิล (fenoxaprop-P-ethyl) ออกซีฟลูออเฟน (oxyfluorfen) และเพรทิลาคลอร์ (pretilachlor) จากแหล่งน้ำได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำมาใช้วางมาตรการการแก้ไขปัญหาการปนเปื้อนสารเคมีในแหล่งน้ำ จำเป็นที่จะต้องใช้วิธีวิเคราะห์ทางเคมีที่มีประสิทธิภาพ ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว และเป็นการพัฒนากระบวนการตรวจสอบสารเคมีที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม สู่มาตรฐานความปลอดภัยด้านอาหาร (สุนันทา และคณะ, 2550) นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาผลกระทบของการใช้สารกำจัดวัชพืช 9 ชนิด คือ 2, 4-D (80%WP) ดาลาพอน (dalapon 85%WP) อะลาคลอร์ (alachlor 48%EC) เพนดิเมทธาลิน (pendimethalin 31.7%EC) ไดเฟนามีด (diphenamid 50%WP) ไลนูรอน (linuron 50%WP) ไดยูรอน (diuron 50%WP) อะทราซีน (atrazine 50%WP) อะซิโพรทริน (aziprotryn 50%WP) กับพืชผักชนิดต่างๆ คือ ข้าวโพด ถั่วเหลือง ข้าว และแตงกวา ภายหลังการใช้สารกำจัดวัชพืช 30 วัน พบว่ามีการตกค้างของสารอะลาคลอร์ในดินประมาณ 2 เดือน และมีผลกระทบมากที่สุดต่อการปลูกข้าว (ธีระพล, 2541)

การศึกษาทางเซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetics) เป็นวิธีการทดสอบเพื่อใช้ศึกษาพฤติกรรมการแบ่งเซลล์และความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดจากการสัมผัสกับสารเคมีหรือสารพิษต่าง ๆ ซึ่งพืชที่นำมาใช้ในการทดสอบได้แก่ พืชสกุล Allium โดยเฉพาะหอมหัวใหญ่ (*Allium cepa* L.) เป็นพืชต้นแบบในการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ เนื่องจากโครโมโซมมีขนาดใหญ่ จำนวน 16 แท่ง และสามารถย้อมติดสีได้ง่าย (Havey, 2002) ในการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชโดยใช้หอมหัวใหญ่เป็นพืชทดสอบ พบว่าสารกำจัดวัชพืชอะทราซีนทำให้ดัชนีการแบ่งเซลล์ลดลง ชักนำให้นิวเคลียสมีขนาดเล็กลง (micronucleus) และเกิดการแตกหักของโครโมโซม (Srivastava and Mishra, 2009) นอกจากนี้หอมหัวใหญ่ยังเป็นพืชต้นแบบที่แสดงให้เห็นถึงผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตได้อย่างชัดเจน เนื่องจากการตอบสนองต่อความเป็นพิษใกล้เคียงกับการทดสอบในสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ เช่นเซลล์สาหร่ายบางชนิด และเซลล์เม็ดเลือดขาวของคน (FiskesjÖ, 1985) ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ที่เป็นพิษต่อเซลล์ และสารพันธุกรรมของสารอะลาคลอร์โดยใช้หอมหัวใหญ่เป็นพืชทดสอบ จะเป็นข้อมูลสำคัญในการประเมินค่าความปลอดภัย และความเสี่ยงต่อการตกค้างของสารเคมีในระบบสิ่งแวดล้อม ที่อาจจะส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตได้

อุปกรณ์และวิธีการ

1.การเตรียมตัวอย่างรากหอมหัวใหญ่

เลือกหอมหัวใหญ่ที่มีขนาดเท่าๆ กัน ลอกเปลือกที่แห้งออกและตัดรากเก่าทิ้ง นำไปล้างน้ำ ผึ่งลมให้แห้ง จึงนำไปแช่ในน้ำกลั่นประมาณ 2-3 วัน เมื่อรากมีความยาวประมาณ 1.5 – 2 เซนติเมตร ย้ายไปแช่ต่อในสารกำจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัชพืชอะลาคลอร์ ที่ระดับความเข้มข้น 1.25 2.5 5 10 และ 20 ppm เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ส่วนหอมหัวใหญ่ชุดควบคุมแช่ในน้ำกลั่นตลอดการทดลอง ตัดรากหอมหัวใหญ่หัวละ 3 - 5 ราก จำนวน 4 หัว ต่อทรีทเมนต์ โดยตัดรากหอมหัวใหญ่ในช่วงระยะเวลา 8.00 - 8.30 น.

2. การเตรียมโครโมโซมหอมหัวใหญ่

2.1 การคงสภาพเซลล์ นำรากหอมหัวใหญ่แช่ในสารเคมีเพื่อคงสภาพเซลล์ประกอบด้วย เอทานอล 95% และ acetic acid ในอัตราส่วน 3:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำมาล้างด้วยเอทานอล 70% และแช่ปลายรากที่ได้ในเอทานอล 70% เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

2.2 การย่อยเซลล์ นำปลายรากที่เตรียมได้ ใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดละ 2 ราก ที่ประกอบด้วยเอนไซม์ pectinase ความเข้มข้น 3% cellulase ความเข้มข้น 4% ละลายใน citrate buffer ที่ประกอบด้วย citrate acid 0.01 mM และ sodium citrate 0.01 mM บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 70 นาที

2.3 การย้อมสีโครโมโซม นำปลายแหลมคีบปลายรากออกจากหลอดทดลองวางบนสไลด์ ตัดรากเฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญมีสีขาวขุ่น หยดสารเคมีคงสภาพที่แช่เย็นลงบนสไลด์ที่ล้างด้วยเอทานอล 95% ขยี้เซลล์ปลายรากให้ทั่วแผ่นสไลด์ รอจนสไลด์แห้ง ย้อมสีด้วยสี giemsa ความเข้มข้น 2% เป็นเวลา 10 นาที ล้างผ่านน้ำกลั่น ผึ่งลมให้แห้ง นำสไลด์ที่ได้มาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การบันทึกผลการทดลอง บันทึกจำนวนเซลล์ในระยะต่างๆ ของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส นับจำนวนและจำแนกชนิดความผิดปกติของเซลล์ โดยนับเซลล์แบบสุ่มอย่างน้อย 4,000 เซลล์ต่อทรีทเมนต์ พร้อมบันทึกภาพ และคำนวณดัชนีการแบ่งเซลล์ (mitotic index) ดัชนีการแบ่งเซลล์ในระยะต่าง ๆ ของไมโทติก (phase index) และเปอร์เซนต์เซลล์ที่มีความผิดปกติ (abnormal cell) จากเซลล์ที่นับได้ในแต่ละทรีทเมนต์ โดยสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{ดัชนีการแบ่งเซลล์} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดในระยะไมโทติก}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้}} \times 100$$

ดัชนีการแบ่งเซลล์ในระยะต่างๆของไมโทติก เช่น ดัชนีการแบ่งเซลล์ระยะเมทาเฟส

$$\text{ดัชนีการแบ่งเซลล์ระยะเมทาเฟส} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ในระยะเมทาเฟส}}{\text{จำนวนเซลล์ที่แบ่งตัวปกติในระยะไมโทติก}} \times 100$$

ความผิดปกติของเซลล์ เช่น ลักษณะความผิดปกติ delayed anaphase ที่พบในระยะแอนาเฟส

$$\text{ความผิดปกติของเซลล์ชนิด delayed anaphase (\%)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ผิดปกติชนิด delayed anaphase}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้}} \times 100$$

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 4 ซ้ำ กำหนดให้ 1 สไลด์เท่ากับ 1 ซ้ำ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Studentized Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลการทดลอง

การศึกษาผลของสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานของรากหอมหัวใหญ่ พบว่าปลายรากหอมหัวใหญ่ที่แช่ในสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20 ppm มีลักษณะผิดปกติ คือ มีสีขาวขุ่นบริเวณปลายราก และรากมีลักษณะเปื่อยยุ่ยมีขนาดเล็กและลีบ เมื่อเปรียบเทียบกับรากหอมหัวใหญ่ที่แช่ในน้ำกลั่นซึ่งมีสีขาวขนาดใหญ่ และมีลักษณะเรียวยาว เมื่อศึกษาพฤติกรรมการแบ่งเซลล์ พบว่าเซลล์รากหอมหัวใหญ่ที่แช่น้ำบริสุทธิ์มีดัชนีการแบ่งเซลล์ 9.28 (Tabel 1) เมื่อเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะไมโทติกพบเปอร์เซนต์การแบ่งเซลล์ที่ระยะโปรเฟส 78.77% เมทาเฟส 7.27% แอนาเฟส 5.59% และระยะเทโลเฟส 8.37% (Table 1) ส่วนผลการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หอมหัวใหญ่ที่แช่ในสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ที่ระดับความเข้มข้นของอะลาคลอร์ที่แตกต่างกัน นาน 12 ชั่วโมง พบว่าค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ลดลงตามความเข้มข้นของสารอะลาคลอร์ที่สูงขึ้น เมื่อเซลล์เริ่มเข้าสู่การแบ่งเซลล์ในระยะไมโทติก เปอร์เซนต์ของเซลล์ระยะโปรเฟสต่อเซลล์ที่เข้าสู่การแบ่งเซลล์มีอัตราส่วนที่สูงขึ้นและสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารอะลาคลอร์ที่เพิ่มขึ้น ที่ระดับความเข้มข้นสูงที่สุด (20 ppm) มีสัดส่วนของเซลล์ในระยะโปรเฟสสูงที่สุด คือ 92.77% ส่วนจำนวนเซลล์ในระยะอื่น ๆ ได้แก่ระยะเมทาเฟส แอนาเฟส และเทโลเฟสมีสัดส่วนลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ เมื่อจำแนกชนิดความผิดปกติของเซลล์บริเวณปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ได้รับสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ (Table 2, Figure 1) พบว่ามีรูปแบบความผิดปกติในรูปแบบต่าง ๆ ดังนี้ เกิดลักษณะการขดตัวของโครมาตินในระยะโปรเฟสผิดปกติ (spindle distribution at prophase) (Figure 1a) ลักษณะโครโมโซมไม่จัดเรียงตัวบริเวณกลางเซลล์ในระยะเมทาเฟส (c-metaphase) (Figure 1b) โครโมโซมในระยะเมทาเฟสและแอนาเฟสขดตัวกันแน่น (chromosome stickiness at metaphase and anaphase) (Figure 1c, 1d) การเข้าสู่ขั้วเซลล์ของกลุ่มโครโมโซมในระยะแอนาเฟสช้ากว่าปกติ (delayed anaphase) (Figure 1e) กลุ่มของโครโมโซม 2 กลุ่มในระยะแอนาเฟสไม่จัดเรียงตัวอยู่ในแนวเดียวกัน (diagonal anaphase) (Figure 1f) และกลุ่มของโครโมโซม 2 กลุ่มในระยะเทโลเฟสไม่จัดเรียงตัวอยู่ในแนวเดียวกัน (diagonal at telophase) (Figure 1g) ลักษณะความผิดปกติที่พบมากที่สุดในเซลล์ปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ได้รับสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ทุกระดับความเข้มข้น คือ การขดตัวของโครมาตินในระยะโปรเฟสผิดปกติ เมื่อศึกษาจำนวนเซลล์ที่ผิดปกติทั้งหมด พบว่า เซลล์ปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ได้รับสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์มีความผิดปกติรวมทั้งหมด 0.14 – 3.72% และเปอร์เซนต์ความผิดปกติรวมลดลงตามความเข้มข้นของสารอะลาคลอร์ที่เพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ไม่ได้รับสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ ไม่พบลักษณะความผิดปกติของเซลล์ (Table 2)

วิจารณ์ผล

จากการศึกษาผลของสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ต่อการแบ่งเซลล์ในปลายรากหอมหัวใหญ่ พบว่าดัชนีการแบ่งเซลล์ที่บริเวณปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ได้รับสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ ลดลงตามความเข้มข้นของสารวัชพืชอะลาคลอร์ที่เพิ่มขึ้น (Table 1) แสดงให้เห็นว่าสารอะลาคลอร์รบกวนกระบวนการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส และส่งผลให้จำนวนเซลล์ที่เข้าสู่ระยะไมโทติกลดลง การลดลงของจำนวนเซลล์ที่เข้าสู่ระยะไมโทติก อาจมีสาเหตุมาจากสารอะลาคลอร์ยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ หรือยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนที่จำเป็นต่อการแบ่งเซลล์ (Schulze and Kirscher, 1986) ผลการศึกษาเปอร์เซนต์ความผิดปกติรวมลดลงตามความเข้มข้นของสารอะลาคลอร์ที่เพิ่มสูงขึ้น (Table 2) อาจเนื่องมาจากจำนวนเซลล์ที่เข้าสู่ระยะไมโทติกลดลง จึงทำให้เปอร์เซนต์ความผิดปกติของเซลล์ที่พบในระยะไมโทติกลดลงตามไปด้วย อิทธิพลของสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ทำให้เกิดลักษณะความผิดปกติของโครโมโซม ซึ่งมีสาเหตุ 2 ประการ คือ เกิดการหดสั้นและหดตัวกันแน่นของโครโมโซมมากกว่าปกติ และรบกวนการจัดเรียงตัวของไมโครทิวบูล (microtubule) ซึ่งส่งผลต่อการสร้างสายสปินเดิล ความผิดปกติของการขดตัวของโครโมโซม อาจเกี่ยวข้องกับสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ที่ส่งผลกระทบต่อโครมาตินที่เกิดจากการรวมตัวของดีเอ็นเอ โปรตีนฮีสโตน และโปรตีนที่ไม่ใช่ฮีสโตน (อมรา, 2540; sumner, 2003) โดยอาจส่งผลกระทบต่อลักษณะทางกายภาพ หรือองค์ประกอบทางเคมีของดีเอ็นเอ และโปรตีนดังกล่าวจับตัวกันกับดีเอ็นเอทำให้การจัดเรียงตัวผิดปกติ (El-Ghamery *et al.*, 2003) ส่งผลให้ลักษณะโครโมโซมหดสั้น มีความหนาขึ้น และขดตัวกันแน่นในระยะเมทาเฟส และแอนาเฟส (Figure 1c, 1d) สำหรับความผิดปกติจากการจัดเรียงตัวไมโครทิวบูล หรือการสร้างสายสปินเดิล อาจเนื่องมาจากสารอะลาคลอร์มีผลต่อการจัดเรียงตัว microtubule เป็นสายสปินเดิล ทำให้การสร้างสปินเดิลไม่สมบูรณ์ (Singh, 2002) ทำให้เกิดลักษณะความผิดปกติได้แก่ spindle disturbance at late prophase (Figure 1a), c-metaphase (Figure 1b), delayed anaphase (Figure 1e), diagonal at anaphase และ diagonal at telophase (Figure 1f, 1g) ผลการศึกษาในครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นี้สอดคล้องกับรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดจากสารกำจัดวัชพืช เช่น Marcano *et al.*, (2004) รายงานว่า ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชมาเลอิกไฮดราไซด์ (maleic hydrazide) ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} M เมื่อได้รับสารกำจัดวัชพืชเป็นเวลา 4 8 12 และ 24 ชั่วโมง โดยใช้หอมหัวใหญ่เป็นพืชทดสอบ พบว่าความเข้มข้นที่แตกต่างกันกับเวลาที่ได้รับสารมีความสัมพันธ์กันกับดัชนีการแบ่งเซลล์ และความผิดปกติของโครโมโซมที่พบ คือ stickiness และ anaphase bridge และจากการรายงานของ Fernandes *et al.*, (2007) พบว่าสารกำจัดวัชพืชไทรฟลูราลิน (trifluralin) ทำให้เกิดความเสียหายในการแบ่งเซลล์ ที่มีต่อไมโครทิวบูล ทำให้พืชไม่สามารถควบคุมการแบ่งเซลล์ได้ และชักนำการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซมภายในเซลล์ (polyploidy cell) นอกจากนี้ยังมีรายงานของสารกำจัดวัชพืชธรรมชาติจากสารสกัดจากใบพุทธชาดก้านแดงด้วยเมทานอล และนำมาทดสอบการแบ่งเซลล์ในรากหอมหัวใหญ่ที่ระดับความเข้มข้น 12.5 25 50 100 200 และ 400 ppm เป็นระยะเวลา 6 12 และ 18 ชั่วโมง พบว่าดัชนีการแบ่งเซลล์ที่บริเวณปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ได้รับสารสกัดจากพุทธชาดก้านแดงลดลงตามการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดและระยะเวลาที่ได้รับสาร และสารสกัดจากใบพุทธชาดก้านแดงยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของจำนวนเซลล์ที่เข้าสู่ระยะโปรเฟส เมทาเฟส แอนาเฟส และเทโลเฟส เซลล์ในระยะโปรเฟสมีอัตราเพิ่มสูงขึ้น ส่วนเซลล์ที่เข้าสู่ไมโทติกในระยะอื่น ๆ มีสัดส่วนลดลง (Teerarak *et al.*, 2010)

ข้อมูลจากการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์โดยใช้หอมหัวใหญ่เป็นพืชทดสอบ เป็นวิธีที่สามารถบ่งชี้ถึงคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ที่เป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxin) ส่งผลให้เซลล์หยุดการเจริญเติบโตของหรือทำให้เซลล์ตายได้ และสามารถใช้บ่งชี้สารที่มีความสามารถทำปฏิกิริยากับสารพันธุกรรมและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหรือทำลายดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นการชักนำที่อาจนำไปสู่การกลายพันธุ์ (mutation) และการเกิดมะเร็ง สารที่มีคุณสมบัตินี้เรียกว่า genotoxin (Grant, 1982) ซึ่งนับเป็นการทดสอบที่สำคัญเพื่อช่วยตรวจสอบได้ว่าสารใดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ หรือทำลายสารพันธุกรรมเพื่อประเมินความปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิต โดยผลจากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ทำให้ดัชนีการแบ่งเซลล์ที่บริเวณปลายรากหอมหัวใหญ่ลดลง แสดงให้เห็นว่าสารอะลาคลอร์เป็นสารออกฤทธิ์ที่เป็นพิษต่อเซลล์อาจทำให้เซลล์หยุดการเติบโตและอาจนำไปสู่การตายของเซลล์ นอกจากนี้สารอะลาคลอร์ยังชักนำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมในระหว่างการแบ่งเซลล์ แสดงถึงความเป็นพิษของสารอะลาคลอร์ต่อสารพันธุกรรมซึ่งอาจชักนำไปสู่การกลายพันธุ์ และการเกิดมะเร็ง (Smaka-Kincl *et al.*, 1996) สอดคล้องกับข้อมูลจาก Environmental Protection Agency (1998) ที่รายงานว่าสารอะลาคลอร์ก่อให้เกิดมะเร็งในหนูถีบจักรและหนูขาว และจัดเป็นสารที่อาจก่อมะเร็งในมนุษย์ แต่อย่างไรก็ตามถือว่ามีความเสี่ยงของการก่อมะเร็งในระดับที่ยอมรับได้ หรือถือว่ามีความเสี่ยงต่ำในการก่อให้เกิดมะเร็ง

Table 1 Mitotic index and mitotic phase index in the meristem cells division of *Allium cepa* L. root induced by alachlor for 12 h.

Concentration (ppm)	Total counted cells	Total mitotic cells	Mitotic index	Mitotic phase index (%)			
				Prophase	Metaphase	Anaphase	Telophase
control	4,594	426	9.28 ± 0.93 ^{a}	78.77 ^{b}	7.27 ^{a}	5.59 ^{a}	8.37 ^{a}
1.25	4,773	334	6.99 ± 0.58 ^{b}	81.24 ^{b}	5.61 ^{ab}	5.38 ^{a}	7.77 ^{a}
2.5	4,395	189	4.30 ± 0.93 ^{c}	83.81 ^{b}	4.18 ^{ab}	5.16 ^{ab}	6.84 ^{ab}
5	4,497	128	2.73 ± 0.26 ^{d}	86.85 ^{ab}	3.45 ^{ab}	4.76 ^{ab}	4.94 ^{ab}
10	4,557	92	2.02 ± 0.45 ^{d}	89.44 ^{ab}	2.27 ^{ab}	4.12 ^{ab}	4.17 ^{ab}
20	4,199	22	0.60 ± 0.23 ^{e}	92.77 ^{a}	0.00 ^{b}	2.45 ^{b}	2.51 ^{b}

In each column, means having the same letter are not significantly different by Tukey's Studentized Range Test (p = 0.05).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 2 Chromosome aberrations in *Allium cepa* L. root meristem cells exposed to alachlor for 12 h.Conc. : Concentration; Spin. dis. at late pro.: Spindle disturbance at late prophase; c-Met.: c-Metaphase; Stic. met.: Sticky Metaphase; Stic. ana.: Sticky anaphase Delay. ana.: Delayed anaphase; Diag. at ana.: Diagonal at anaphase; Dia. at Telo.: Diagonal at telophase.

Conc. (ppm)	Total counted cells	%Spin. dis. at late pro.	%c-Met.	%Stic. met.	%Stic. ana.	%Delay. ana.	%Diag. at ana.	%Dia. at Telo.	%Total abnormalities
control	4,594	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 [c]
1.25	4,773	1.47	0.82	0.65	0.15	0.19	0.06	0.40	3.72 ± 1.31 [a]
2.5	4,395	1.24	0.60	0.29	0.07	0.14	0.00	0.23	2.57 ± 1.31 [ab]
5	4,497	0.82	0.38	0.33	0.04	0.07	0.00	0.11	1.76 ± 0.34 [b]
10	4,557	0.57	0.33	0.15	0.02	0.02	0.00	0.07	1.17 ± 0.40 [bc]
20	4,199	0.10	0.02	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.17 ± 0.14 [c]

In each column, means having the same letter are not significantly different by Tukey's Studentized Range Test (p = 0.05).

สรุป

จากการศึกษาผลของสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอร์ต่อการแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากหอมหัวใหญ่ พบว่าดัชนีการแบ่งเซลล์ลดลงตามความเข้มข้นของสารอะลาคลอร์ที่เพิ่มขึ้น และเมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะไมโทติกส่งผลทำให้การแบ่งเซลล์ในระยะโปรเฟสมีสัดส่วนเพิ่มขึ้น ส่วนเซลล์ในระยะเมทาเฟส แอนาเฟส และเทโลเฟส มีสัดส่วนลดลง พบความผิดปกติที่เกิดจากโครโมโซมหดสั้น และขดตัวกันแน่นในระยะเมทาเฟส และแอนาเฟส และความผิดปกติที่เกิดจากการรบกวนการสร้างสายสปินเดิล คือ spindle disturbance at prophase, c-metaphase, delayed anaphase, diagonal at anaphase และ diagonal at telophase จากข้อมูลพฤติกรรมการแบ่งเซลล์และความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดขึ้นระหว่างการแบ่งเซลล์ สารอะลาคลอร์จึงจัดเป็นสารที่มีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์ และเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม

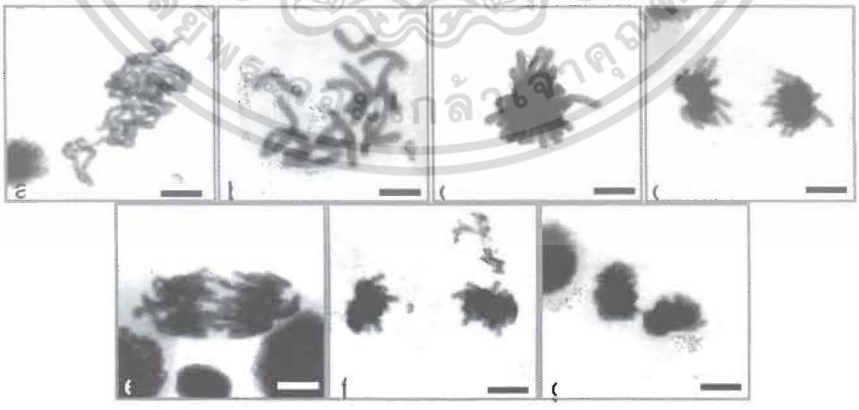

Figure 1 Showing a spindle disturbance at late prophase (a); c-metaphase (b); sticky metaphase (c); sticky anaphase (d); delayed anaphase (e); diagonal at anaphase (f); diagonal at telophase (g) in *Allium cepa* L. root tip cells exposed to alachlor for 12 h. Bar represents 10 μm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ธีระพล อุ่นจิตต์วรรธนะ. 2541. ผลกระทบของการใช้สารกำจัดวัชพืช (ต่อพืชอาหาร). ข่าวสารวัตถุมีพิษ 25(2) : 62-63.

ธวัชชัย รัตน์ชเลศ. 2540. เทคโนโลยีสารกำจัดวัชพืช. สำนักพิมพ์รั้วเขียว, กรุงเทพฯ.

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2531. สารกำจัดวัชพืช. เชียงใหม่คอมพิวกราฟฟิค.

สุนันทา ชมพูนุช พงศ์ศรี ใบอดุลย์ และคณะ 2550 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารกำจัดวัชพืช alachlor, bromacil, fenoxaprop-P-ethyl, oxyfluorfen และ pretilachlor ในน้ำ โดยวิธี Gas Chromatography. รายงานเรื่องเต็มผลการทดลองที่สิ้นสุด ปีงบประมาณ 2550. สำนักงานวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสารกำจัดวัชพืช ปี 2537-2550 กระทรวงการเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

อมรา คัมภิรานนท์. 2540. พันธุศาสตร์ของเซลล์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

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 Growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L. Mutation Research 537 : 29-41.

Environmental Protection Agency. 1998. Prevention,Pesticides and Toxin Substances, Alachlor, 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.

FiskesjÖ, G., 1985. The Allium Test as a Standard in Environmental Monitoring. Hereditas 102, 99-112

Grant, W.F.1982. Chromosome aberration assays in Allium. A report of the U.S. EPA Gene-Tox Program. Mutation Research 99 : 273-291.

Havey, M.J., 2002. Genome Organization in Allium. pp. 59-79. *In* H.D. Rabinowitch and L. Currah. (eds), Allium Crop Science. Recent Advances. CABI Publishing, United Kingdom.

Marcano, L., I. Carruyo, A.D. 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.

Smaka-Kincl, V., P. Stegnar, M. Lovka and M.J. Toman. 1996. The evaluation of waste, surface and ground water quality using the Allium test procedure. Mutation Research 368 : 171–179.

Schulze, E. and S. Kirschner. 1986. Microtubule dynamics in interphase cells. Journal of Cell Biology 102 : 1020–1031.

Singh, R.J. 2002. Plant Cytogenetics. CRC Press, London.

Srivastava, K. and K.K. Mishra. 2009. Cytogenetic effects of commercially formulated atrazine on the somatic cells of *Allium cepa* and *Vicia faba*. Pesticide Biochemistry and Physiology 93 : 8–12.

Sumner, A.T. 2003. Chromosomes Organization. Blackwell Publishing, North Berwick.

Teerarak M., C. Laosinwattana and P. Charoenying. 2010. Evaluation of allelopathic, decomposition and cytogenetic activities of *Jasminum officinale* L. f. var. *grandiflorum* (L.) Kob. on bioassay plants. Bioresource Technology 101 : 5577–5684.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้