

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการเติบโตของราก นิวคลีโอลัสและกิจกรรม

การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสในหอมหัวใหญ่

The Effects of NaCl on Root Growth, Nucleolus and Mitotic Activity of *Allium cepa*



โดย

นายกฤษฎา เขียนดี

นางสาวศิวพร แก้วชุ่มชื่น

รฟ.

๗๒๗๘

๒๕๕๐

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 82111

วัน,เดือน,ปี..... ๘ ก.ค. ๒๕๕๑

เสนอ

b. 11๑๔๖๑๑๑
i.....

ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (พืชสวน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการ **พุทธศักราช ๒๕๕๐** เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาพืชสวน

เรื่อง

ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการเติบโตของราก นิวคลีโอลัสและกิจกรรม

การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสในหอมหัวใหญ่

The Effects of NaCl on Root Growth, Nucleolus and Mitotic Activity of *Allium cepa*

โดย

นายกฤษฎา เขียนดี

นางสาวศิวพร แก้วชุ่มชื่น

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบ โดย



(อาจารย์มณฑินี ชีรารักษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

วันที่ 10 เดือน เมษายน พ.ศ. 2551

ภาควิชารับรองแล้ว



(รศ.ดร.สมชาย กล้าหาญ)

หัวหน้าภาควิชาพืชสวน

วันที่ 10 เดือน 10 พ.ศ. 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง : ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการเติบโตของราก นิวคลีโอลัส และ
กิจกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสในหอมหัวใหญ่

โดย : นายกฤษฎา เขียนดี
นางสาวศิวพร แก้วชุ่มชื่น

สาขา : พืชสวน

ภาควิชา : พืชสวน

คณะ : เทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์มณฑินี ชีรารักษ์

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80, 120 และ 160 mM ที่มีต่อการเจริญเติบโตของราก การแบ่งเซลล์ ความผิดปกติของโครโมโซม และ นิวคลีโอลัสในเซลล์ปลายรากหอมหัวใหญ่ พบว่าสารละลายโซเดียมคลอไรด์ลดอัตราการเจริญเติบโตของราก และทำให้เกิดความผิดปกติในระยะไมโทซิส ได้แก่ โครโมโซมกระจายตัว ไม่อยู่บริเวณกลางเซลล์ (chromosome disturbance) โครโมโซมพันกันแน่น (stickiness) การเชื่อมต่อกันคล้ายสะพานระหว่างโครโมโซม (bridges) การเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมเพื่อเข้าสู่ระยะแอนาเฟสช้ากว่าปกติ (lagging chromosome) และยังสังเกตพบความผิดปกติของนิวเคลียสในระยะอินเตอร์เฟส ได้แก่ นิวเคลียสมีขนาดไม่เท่ากัน (unequal) การแบ่งนิวเคลียสแยกตัวออกจากกันไม่สมบูรณ์ (budding chromosome) นิวเคลียสมีขนาดเล็กกว่าปกติ (micronuclei) และมีบางส่วนของนิวเคลียสที่ย้อมสีไม่ติด (nucleus disturbed) สารละลายโซเดียมคลอไรด์ยังมีผลต่อทำให้จำนวนนิวเคลียสที่มี 2 นิวคลีโอลัส และนิวเคลียสที่มี 1 นิวคลีโอลัสเพิ่มขึ้น แต่นิวเคลียสที่มี 3 นิวคลีโอลัสมีจำนวนลดลง ปริมาตรของนิวเคลียสในระยะอินเตอร์เฟส ค่าเฉลี่ยของพื้นที่ของนิวคลีโอลัส และพื้นที่รวมของนิวเคลียสมีค่าลดลงผกผันกับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์

Title : The Effects of NaCl on Root Growth, Nucleolus and Mitotic Activity of *Allium cepa*

By : Mr. Krissada Kiandee
Miss. Siwaporn Keawchumchean

Department : Horticulture

Major : Horticulture

Faculty : Agricultural Technology

Advisor : Miss Montinee Teerarak

ABSTRACT

The effects of different concentrations of sodium chloride (NaCl) on root growth cell division, chromosome morphology and nucleolus in root tip cell of *Allium cepa* were investigated. The concentrations of NaCl were 40, 80, 120 and 160 mM. These results indicated that NaCl reduced root growth and caused mitotic abnormalities, including chromosome disturbance, stickiness, bridge and lagging. In addition, interphase cell with micronuclei, budding, unequal and nucleus disturbance were observed. The presence of NaCl increased the number of cell with two nucleoli and lowered the number of cell with one nucleolus and with three nucleoli. The interphase nucleolar volume (INV) and the average area of a nucleolus with 1-3 nucleoli as well as total nucleolar area in the nucleus were negatively correlated with the NaCl concentrations.

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์มณฑินี ชีรารักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่กรุณาให้คำแนะนำแนวทางแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น ตลอดจนติดตามความก้าวหน้างานการทดลองสำเร็จ

ขอกราบขอบพระคุณพี่ ๆ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเพื่อน ๆ ทุกคนที่ช่วยให้คำปรึกษา และคำแนะนำแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ตลอดจนที่คอยเป็นกำลังใจ คอยกระตุ้น และให้ความช่วยเหลือข้าพเจ้าตลอดมา และขอขอบพระคุณภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้การศึกษา และอำนวยความสะดวกในเรื่องสถานที่ในการปฏิบัติงานทดลองตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณแม่ และญาติพี่น้องทุกท่านที่ให้การสนับสนุนปัจจัยต่าง ๆ ในการเรียน คำแนะนำสั่งสอน พร้อมทั้งคอยให้กำลังใจตลอดมาจนปัญหาพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นายกฤษฎา

เขียนดี

นางสาวสิวพร

แก้วชุ่มชื่น

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ.....	I
สารบัญตาราง.....	II
สารบัญภาพ.....	III
สารบัญตารางภาคผนวก.....	IV
คำนำ.....	1
วัตถุประสงค์.....	1
การตรวจเอกสาร.....	2
อุปกรณ์และวิธีการ.....	10
ผลการทดลอง.....	14
วิจารณ์ผลการทดลอง.....	30
สรุปผลการทดลอง.....	31
เอกสารอ้างอิง.....	32
ภาคผนวก.....	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1	แสดงความยาวรากของหัวหอมที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้นที่แตกต่าง..... 15
ตารางที่ 2	ค่าดัชนีการแบ่งตัวและจำนวนการแบ่งเซลล์ในระยะ โพรเฟส เมทาเฟส แอนาเฟส และเทโลเฟสของเซลล์ปลายรากหอมหัวใหญ่..... 18
ตารางที่ 3	ตารางแสดงชนิดและเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของ โครโมโซมที่เกิดจาก สารละลายโซเดียมคลอไรด์..... 19
ตารางที่ 4	แสดงปริมาตรของนิวเคลียสในระยะ interphase ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ..... 25
ตารางที่ 5	แสดงเปอร์เซ็นต์ของนิวเคลียสในระยะ interphase ที่มี 1 2 และ 3 นิวคลีโอไลต์..... 25
ตารางที่ 6	แสดงพื้นที่เฉลี่ย 1 นิวคลีโอไลต์ต่อ 1 นิวเคลียส 26
ตารางที่ 7	ตารางแสดงพื้นที่รวมของนิวคลีโอไลต์ต่อ 1 นิวเคลียสในระยะ interphase..... 26

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	แสดงความยวรากรากของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน.....	14
ภาพที่ 2	แสดงลักษณะรากของหอมหัวใหญ่.....	17
ภาพที่ 3	แสดงพฤติกรรมการแบ่งเซลล์โครโมโซมของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในน้ำกลั่น (กำลังขยาย 400 เท่า).....	20
ภาพที่ 4	แสดงความผิดปกติของโครโมโซมของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 40 mM (กำลังขยาย 400 เท่า).....	21
ภาพที่ 5	แสดงความผิดปกติของโครโมโซมของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 80 mM (กำลังขยาย 400 เท่า).....	22
ภาพที่ 6	แสดงความผิดปกติของโครโมโซมของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 120 mM (กำลังขยาย 400 เท่า).....	23
ภาพที่ 7	แสดงความผิดปกติของโครโมโซมของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 160 mM (กำลังขยาย 400 เท่า).....	24
ภาพที่ 8	แสดงลักษณะนิวเคลียสที่มี 1 นิวคลีโอลัสที่อยู่ในระยะ interphase ของรากหอมหัวใหญ่.....	27
ภาพที่ 9	แสดงลักษณะนิวเคลียสที่มี 2 นิวคลีโอลัสที่อยู่ในระยะ interphase ของรากหอมหัวใหญ่.....	28
ภาพที่ 10	แสดงลักษณะนิวเคลียสที่มี 3 นิวคลีโอลัสที่อยู่ในระยะ interphase ของรากหอมหัวใหญ่.....	29

สารบัญตารางภาคผนวก

	หน้า
ตารางผนวกที่ 1	วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงความยาวรากของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกใน สารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน.....35
ตารางผนวกที่ 2	วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของการแบ่งเซลล์รากหอมหัวใหญ่ (Mitotic index)..... 35
ตารางผนวกที่ 3	วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของความผิดปกติของเซลล์ราก หอมหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ในความเข้มข้น ที่แตกต่างกัน.....35
ตารางผนวกที่ 4	วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของการแบ่งเซลล์ในระยะ Prophase ของเซลล์รากหอมหัวใหญ่ (Mitotic Phase ไม่นับระยะinterphase)..... 36
ตารางผนวกที่ 5	วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของการแบ่งเซลล์ในระยะ Metaphase ของเซลล์รากหอมหัวใหญ่ (Mitotic Phase ไม่นับระยะ interphase)..... 36
ตารางผนวกที่ 6	วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของการแบ่งเซลล์ในระยะ Anaphase ของเซลล์รากหอมหัวใหญ่ (Mitotic Phase ไม่นับระยะinterphase)..... 36
ตารางผนวกที่ 7	วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของการแบ่งเซลล์ในระยะTelophase ของเซลล์รากหอมหัวใหญ่ (MitoticPhase ไม่นับระยะ interphase)..... 37
ตารางผนวกที่ 8	ปริมาตรโครโมโซมในระยะ interphase..... 37
ตารางผนวกที่ 9	วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงจำนวนนิวเคลียสที่มี 1 นิวคลีโอลัส ในเซลล์รากหอมหัวใหญ่.....37
ตารางผนวกที่ 10	วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงจำนวนนิวเคลียสที่มี 2 นิวคลีโอลัส ในเซลล์รากหอมหัวใหญ่.....38
ตารางผนวกที่ 11	วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงจำนวนนิวเคลียสที่มี 3 นิวคลีโอลัส ในเซลล์รากหอมหัวใหญ่.....38
ตารางผนวกที่ 12	แสดงค่าเฉลี่ยพื้นที่นิวคลีโอลัสต่อ 1 นิวเคลียส..... 38
ตารางผนวกที่ 13	แสดงผลรวมพื้นที่นิวคลีโอลัส..... 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ทรัพยากรดิน นับว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งในการผลิตพืช เนื่องจากดินเป็นแหล่งของธาตุอาหาร น้ำ และเป็นที่ยึดเหนี่ยวของพืช ดังนั้น ถ้าดินมีศักยภาพในการผลิตที่ต่ำจะทำให้เกษตรกรไม่สามารถผลิตพืชให้มีรายได้เพียงพอต่อการยังชีพ ดินที่มีศักยภาพในการผลิตต่ำที่พบเห็นได้ทั่วไป ได้แก่ ดินเปรี้ยว ดินทรายจัด ดินถูกชะล้างพังทลายสูงทำให้ความอุดมสมบูรณ์ลดลงในประเทศไทยพบดินเค็มแพร่กระจายทั่วไปในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และบริเวณชายฝั่งทะเล (สมศรี, 2539) คิดเป็นพื้นที่ถึง 21.72 ล้านไร่ (ฐานข้อมูลเพื่อการพัฒนาประเทศ, 2551) ปัญหาดินเค็ม เกิดจากดินมีปริมาณเกลือที่ละลายในสารละลายดินมากเกินไป องค์ประกอบของเกลือในดินเค็มเกิดจากการรวมตัวของธาตุที่มีประจุบวก พวก โซเดียม แมกนีเซียม ร่วมกับธาตุที่มีประจุลบ เช่น คลอไรด์ ซัลเฟต ไบคาร์บอเนต และไนเตรต ซึ่งส่งผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโต ผลผลิต รวมถึงความผิดปกติในระดับเซลล์ อีกทั้งในปัจจุบันงานวิจัยเกี่ยวกับผลกระทบจากเกลือที่ส่งผลกระทบต่ออาการเจริญเติบโต นิวเคลียส และนิวคลีโอลัสในพืช ยังมีข้อมูลน้อย เพราะนิยมศึกษาผลกระทบจากสารเคมีในสิ่งแวดล้อมเป็นจำนวนมาก ดังนั้น จึงมีแนวคิดที่จะศึกษาผลของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่มีต่อเนื้อเยื่อปลายราก โดยใช้หอมหัวใหญ่ (*Allium cepa* L.) เป็นพืชต้นแบบในการศึกษา ซึ่งผลการศึกษาที่ได้จะนำไปพัฒนา และประยุกต์ใช้ทดสอบเพื่อหาพืชที่เหมาะสม และทนเค็ม ได้สูงที่มีศักยภาพในอนาคตต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของรากหอมหัวใหญ่
2. เพื่อศึกษาความเป็นพิษในระดับเซลล์เมื่อพืชได้รับโซเดียมคลอไรด์
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการแบ่งเซลล์ ความผิดปกติของโครโมโซม และนิวคลีโอลัส ที่เป็นผลมาจากโซเดียมคลอไรด์

ตรวจเอกสาร

ผลของดินเค็มที่มีต่อพืช

ดินเค็ม หมายถึง ดินที่มีเกลือละลายน้ำได้มากเกินไป จนเป็นอันตรายต่อพืช ปกติจะวัดเป็นหน่วยของค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายที่สกัดออกมาจากบริเวณรากพืชยังถึงเกินกว่า 2 มิลลิโมห์ต่อเซนติเมตร หรือเคซิซีเมนต่อเมตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส องค์ประกอบของเกลือในดินเค็มเกิดจากการรวมตัวของธาตุที่มีประจุบวก พวกโซเดียม แมกนีเซียม รวมทั้งธาตุที่มีประจุลบ เช่น คลอไรด์ ซัลเฟต โบคาร์บอเนต และไนเตรต พืชที่ขึ้นในดินเค็มส่วนมากมักตายเป็นหย่อม ๆ ต้นแคระแกรน การเจริญเติบโตของพืชที่อยู่ในแปลงไม่สม่ำเสมอ อาการที่พบส่วนใหญ่ คือ ขนาดใบลดลง และใบมีสีเขียวเข้มกว่าปกติ ใบหนา หรือมีอาการอวบน้ำ ใบกรอบ ใบไหม้จากปลายใบมายังโคนใบ และใบแก่จะเกิดอาการไหม้ก่อนใบอ่อน นอกจากความเค็มจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางการเจริญเติบโต และผลผลิตแล้ว ความเค็มยังมีผลทำให้พืชเกิดอาการขาดน้ำ ถึงแม้มีน้ำพอเพียง แต่พืชจะดูดน้ำไปใช้ไม่ได้ เนื่องจากมีแรงดันออสโมติกซึ่งแปรผันกับความเค็ม ถ้าความเค็มสูงขึ้นแรงดันออสโมติกก็สูงด้วย พืชก็ดูดน้ำได้น้อย ผลกระทบอีกประการหนึ่ง คือ เกิดความเป็นพิษของธาตุที่เป็นส่วนประกอบของเกลือที่ละลายออกมา โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุโซเดียม และคลอไรด์ นอกจากนี้ธาตุโซเดียมยังมีผลทำให้โครงสร้างของดินเลว ดินแน่น รากพืชชอนไชไปยาก พืชที่ได้รับผลกระทบจากเกลือในระยะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน คือ ระยะการงอก ความเค็มมีผลให้เมล็ดงอกช้ากว่าปกติ และเปอร์เซ็นต์การงอกลดลง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่สามารถทนระดับความเค็มที่ต่างกัน แต่ใบที่งอกออกมาใหม่ของพืชบางชนิดจะไม่แสดงอาการ หรือมีอาการน้อยมาก เนื่องจากพืชยังใช้อาหารที่มีอยู่ภายในเมล็ดพืช ระยะต้นกล้า ระยะนี้พืชจะได้รับผลกระทบจากความเค็มมาก และมีเปอร์เซ็นต์ตายสูง ระยะก่อนออกดอก เป็นระยะที่มีความสามารถในการทนเค็มสูง การเจริญเติบโตน้อยมาก พืชจะแสดงอาการให้เห็น คือ ปลายใบไหม้ และม้วน ระยะออกดอก ความเค็มมีผลต่อการเจริญของเกสรตัวผู้ ทำให้อัตราการผสมเกสรติดลดลง เปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบจึงสูง เป็นผลให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก และระยะเก็บเกี่ยว ในระยะนี้จะไม่ค่อยได้รับผลกระทบโดยตรง แต่ผลที่เกิดขึ้นเป็นผลกระทบที่ได้รับก่อนช่วงนี้ (สมศรี, 2539)

Walker *et al.* (2002) รายงานว่า NaCl ที่ 3.5 dS/m มีผลทำให้ดินตออุ้งน้พันธุ์ Ramsey 1103P และ J17-69 มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงตามความเข้มข้นของ NaCl ที่เพิ่มขึ้น แต่ในช่วง 5-20 วันหลังได้รับเกลือ มีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจาก NaCl ทำให้พื้นที่ใบลดลง สอดคล้องกับ Munns และ Termaat (1986) รายงานว่า อิทธิพลของ NaCl มีผลทำให้การเจริญเติบโต รวมทั้งน้ำหนักแห้งลดลง ทั้งนี้เนื่องจาก ความเข้มข้นของเกลือมีผลทำให้รากดูดน้ำ และธาตุอาหาร ได้น้อยลง ทำให้การเจริญเติบโตของราก ลำต้น และใบลดลงไปด้วย

วัฏจักรของเซลล์

วัฏจักรของเซลล์ (cell cycle) ประกอบด้วย 2 ระยะเวลา คือ ระยะเวลา interphase (non-dividing period) เป็นระยะเตรียมการ มีการสร้างโปรตีน และองค์ประกอบต่าง ๆ ที่จำเป็นในการแบ่งเซลล์ และการจำลองโครโมโซม และระยะ mitosis (dividing period) เป็นกระบวนการแบ่งนิวเคลียสแบบที่ไม่มีการลดจำนวนโครโมโซม และมีการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมแบบต่อเนื่องกันตามระยะต่าง ๆ ดังนี้

ระยะอินเตอร์เฟส (interphase) เป็นระยะที่นานที่สุด เซลล์ที่อยู่ในระยะนี้จะเห็นลักษณะของนิวเคลียสเป็นก้อนกลมมีเยื่อหุ้มนิวเคลียส และภายในจะเห็นเป็นจุดเล็ก ๆ อยู่เต็มลักษณะเช่นนี้ คือ โครโมโซมที่อยู่ในสภาพที่เป็น chromatin ซึ่งแปลว่า color material องค์ประกอบอีกชนิดหนึ่ง que เห็นในนิวเคลียสระยะนี้ คือ นิวคลีโอลัส (nucleolus) นิวคลีโอลัสเป็นศูนย์กลางของการสร้างไรโบโซม (ribosome) ประกอบด้วย RNA เป็นส่วนใหญ่ ระยะนี้เซลล์จะมีการสังเคราะห์ DNA เพิ่มขึ้น และมีเมทาบอลิซึม เพื่อเตรียมเซลล์ให้พร้อมในการแบ่งเซลล์ ระยะ interphase แบ่งได้เป็น 3 ระยะ ต่อเนื่องกันไปคือ G₁ S G₂ preduplication (G₁ = Gap1) เป็นระยะที่มีการสร้าง mRNA tRNA ribosome โปรตีน และเอนไซม์ ที่จำเป็นสำหรับการแบ่งเซลล์ ระยะ G₁ เป็นระยะที่นานที่สุดของระยะ interphase DNA synthesis (S = Synthesis) ระยะนี้ใช้เวลา น้อยกว่า G₁ แต่นานกว่า G₂ มีการสังเคราะห์ DNA (DNA replication) หรือมีการจำลองโครโมโซม (chromosome duplication) อีกหนึ่งจุด Post DNA duplication (G₂ = Gap2) ในระยะนี้เซลล์จะมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DNA เป็น 2 เท่าของระยะอินเตอร์เฟสเริ่มต้น มีการสร้างโปรตีน และองค์ประกอบต่าง ๆ ที่จำเป็นในการแบ่งเซลล์ หลังจากนั้น เซลล์จะเข้าสู่ระยะต่าง ๆ ของไมโทซิสต่อไป

ระยะโพรเฟส (prophase) เป็นระยะที่ใช้เวลานานที่สุด เริ่มเห็นโครโมโซมเป็นเส้นบาง ๆ และค่อย ๆ ขดตัวหนาขึ้น จนเห็นเป็นท่อนสั้น ๆ แต่กระจายตัวไม่เป็นระเบียบ ระยะนี้แต่ละโครโมโซมจะมี 2 chromatid ซึ่งติดกันที่เซนโทรเมียร์ ระยะต้นของโพรเฟส ยังคงเห็นเยื่อหุ้มนิวเคลียสได้ชัดเจน แต่ตอนปลายเยื่อหุ้มนิวเคลียส และนิวคลีโอลัสจะสลายไป ไมโครทิวบูล (microtubule) ที่อยู่ในไซโตพลาสซึมจะต่อกันเป็นสายยาวของเส้นใยสปินเดิล (spindle fiber) โยงระหว่างขั้วของเซลล์

ระยะเมทาเฟส (metaphase) ระยะนี้โครโมโซมจะมาเรียงตัวกันในแนวเส้นศูนย์สูตรของเซลล์ หรือแนวกลางเซลล์ (equatorial plate) ถ้าดูทางด้านข้างของเซลล์จะเห็นเรียงเป็นแนวตรง แต่ถ้าดูจากทางด้านบนจะเห็นโครโมโซมเรียงเป็นวง ซึ่งเป็นระยะที่ใช้ในการศึกษาการโอโทปี (karyotype) ของสิ่งมีชีวิต เช่น โครโมโซมในตอนต้นของระยะเมทาเฟสจะเป็นอันเดียว แต่ในช่วงปลายระยะเมทาเฟส เซนโทรเมียร์จะแยกออกเป็น 2 ส่วน แต่ยังอยู่ชิดกัน

ระยะแอนาเฟส (anaphase) เป็นระยะที่ใช้เวลาสั้นที่สุดในการแบ่งเซลล์ เซนโทรเมียร์ของแต่ละโครโมโซมจะแยกออกจากกัน และถูกดึงโดย kinetochore microtubule ไปยังขั้วของเซลล์ ทำให้ chromatid ถูกแยกออกจากกัน รูปร่างของโครโมโซมขณะที่ถูกดึงไปยังขั้วจะมีรูปร่างลักษณะคล้ายอักษรตัว V J หรือ I แล้วแต่ตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ในแต่ละโครโมโซม กลุ่มของโครโมโซมที่แยกออกจากกันเป็นอิสระ เรียกว่า daughter chromosome ในระยะนี้ไซโตพลาสซึมยังคงเหมือนในระยะเมทาเฟส เมื่อสิ้นสุดระยะนี้โครโมโซมแต่ละชุดจะมารวมกันที่ขั้วของเซลล์

ระยะเทโลเฟส (telophase) โครโมโซมจะมาอยู่เป็นกลุ่มที่ขั้วเซลล์ จากนั้นโครโมโซมก็จะค่อย ๆ คลายตัวออก การเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมในระยะนี้จะตรงข้ามกับระยะโพรเฟส ในตอนท้ายของระยะนี้จะเริ่มเห็นนิวคลีโอลัส และเยื่อหุ้มนิวเคลียส ระยะนี้มีการแบ่งไซโตพลาสซึมออกเป็น 2 ส่วน ในเซลล์บางชนิด อาจจะเริ่มตั้งแต่ระยะแอนาเฟส ในพืชเกิด cell plate ขนาดของ

เซลล์ลูกเป็นครึ่งหนึ่งของเซลล์แม่ เซลล์ลูกที่ได้ทั้งสองเซลล์มีสารพันธุกรรม และจำนวนของโครโมโซมเท่ากับเซลล์แม่ แต่ละโครโมโซมของเซลล์ลูกมี chromatid เดียว

เมื่อสิ้นสุดการแบ่งเซลล์ เซลล์ลูกจะมีการเจริญเติบโตจนกระทั่งมีขนาดเท่ากับเซลล์แม่ แล้วเริ่มการแบ่งเซลล์ใหม่ ในลักษณะนี้ทำให้เกิดวัฏจักรเซลล์ (นิคย์ศรี, 2541)

การทดสอบความเป็นพิษด้วยวิธีการ Allium Test

การทดสอบความเป็นพิษโดยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์พืชชั้นสูง มีวิธีการที่ใช้กันโดยทั่วไป ได้แก่ การสังเกตการพัฒนา และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ การยับยั้งการเติบโตของราก และการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม การทดสอบที่นิยมใช้เพื่อทดสอบถึงการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมที่เกิดจากการสัมผัสกับสารเคมี คือ การทดสอบที่เรียกว่า Allium Test ซึ่งพืชที่นำมาใช้ในการทดสอบ ได้แก่ พืชสกุล Allium (หอมแดง, หอมเล็ก) เช่น *Allium cepa*, *A. ascalonium*, *A. carinatum*, *A. fistulosum* และ *A. sativum* เนื่องจากหอมจัดเป็น bioindicator ชนิดหนึ่งในการศึกษาทางเซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetics) โดยเป็นการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมในเซลล์บริเวณปลายราก เนื่องจากมีโครโมโซมน้อยคู่ คือ 16 คู่ ($2n=16$) โครโมโซมมีขนาดใหญ่ และสามารถย้อมติดสีได้ง่าย (Krzisnik and Muratovic, 2005) วิธี Allium Test ได้ถูกนำมาประยุกต์ให้เป็นวิธีมาตรฐานในการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของลักษณะของโครโมโซม (Chromosome aberration) ที่เกิดจากสารเคมีในสิ่งแวดล้อม เช่น ปุ๋ยที่ตกค้างในดินจากการทำการเกษตรกรรม และโลหะหนักที่ปนเปื้อนมากับตะกอนน้ำเสียจากแหล่งอุตสาหกรรม วิธีการ Allium Test นั้นมีวิธีการทดสอบซึ่งสามารถสรุปได้สั้น ๆ ดังนี้คือ เริ่มจากนำตัวอย่างต้นหอม (*Allium sp.*) ต้นเล็ก ๆ ใส่ในหลอดทดลอง และเติมด้วยสารที่ต้องการทดสอบ ทิ้งไว้ 4 วัน หลังจากผ่านไป 48 ชั่วโมง เซลล์ของต้นหอมจะถูกเลือกนำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูถึงลักษณะการแบ่งเซลล์ของบริเวณส่วนปลายราก หลังจากครบ 4 วัน ของการทดลอง นำรากของต้นหอมมาวัดความยาวเพื่อดูถึงอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโต (Growth inhibition) ของสารเคมี ความยาวเฉลี่ยของรากของต้นหอม ลักษณะการก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ และกลไกการเกิดพิษ โดยศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ข้อมูลการเจริญเติบโตของรากต่อสารเคมีชนิดต่าง ๆ จะถูก

นำไปคาดประมาณกับความเป็นพิษที่เกิดต่อมนุษย์ และความคิดปกติของการแบ่งเซลล์เนื่องจากผลเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสารเคมี จากรายงานของ Liu *et al.* (1994) พบว่า สารตะกั่ว มีผลต่อการแบ่งเซลล์ในหอม (*Allium cepa* L.) มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของราก และทำให้การแบ่งตัวของเซลล์ผิดปกติ ความผิดปกติที่พบ ได้แก่ โครโมโซมไม่เคลื่อนเข้าสู่ขั้วเซลล์ Zoldos *et al.* (1997) พบว่าน้ำมัน และก๊าซจากโรงงานผลิตสารเคมี ส่งผลกระทบต่อ การแบ่งเซลล์ โดยมีผลต่อการสร้าง spindle fiber การแบ่งเซลล์ที่ปลายรากหอม (*Allium ascalonicum* L.) เกิดลักษณะความผิดปกติ มีการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซม และโครมาตินมีลักษณะหดสั้นหนากว่าปกติ เป็นเหตุให้เกิดการเกาะกลุ่มของโครโมโซม ทำให้เกิด sticky bridge ในระยะแอนาเฟส และเทโลเฟส อีกทั้ง ส่งผลกระทบต่อ การแบ่งไซโทพลาสซึม (cytokinesis) ด้วย รวมทั้งนำไปประยุกต์ใช้ศึกษากลไกการทำลายของสารกำจัดวัชพืชภายในต้นพืช ในสารกำจัดวัชพืชหลายชนิด เช่น carbamates, mercurials chlorocyclohexan, nitratin, maleic hydrazide และ atrazinc ส่งผลกระทบต่อในทุกระยะของการแบ่งเซลล์ และสารกำจัดวัชพืชบางชนิด มีผลต่อการสร้าง cell plate ในการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ซึ่งจะมีผลยับยั้งการสร้าง microtubule โดยตรง (Oliva *et al.*, 2002)

ลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดจากการได้รับสารเคมีบางชนิด

Ghamery *et al.* (2003) ได้ศึกษาผลของ Zn^{2+} ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และการแบ่งเซลล์ในปลายรากของ *Nigella sativa* L. และ *Triticum aestivum* L. ในแต่ละระยะของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ดังต่อไปนี้

ระยะอินเตอร์เฟส เกิดการแบ่งโครโมโซมแต่ละขั้วไม่เท่ากัน (unequal) ซึ่งเป็นผลทำให้ขนาด และรูปร่างของนิวเคลียสไม่สม่ำเสมอ หรือมีขนาดไม่เท่ากัน ทำให้เกิดนิวเคลียสที่มีขนาดเล็ก (micronuclei)

ระยะโพรเฟส การแบ่งเซลล์มีขนาดไม่สม่ำเสมอ มีลักษณะเป็น โพรงเล็ก ๆ บริเวณกลางเซลล์ และมีบางส่วนนิวเคลียสที่ย้อมสีไม่ติด (non-stainability) หรือโครมาทินมีลักษณะเส้นบาง ๆ ซึ่งเป็นผลมาจากการจำลองสาย DNA ผิดปกติ

ระยะเมทาเฟส Zn^{2+} มีผลชักนำให้การแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟสถูกรบกวนจึงทำให้เกิดความผิดปกติประเภท c-mataphase เพราะการสร้างเส้นใยสปินเดิลถูกยับยั้ง หรือสร้างไม่สมบูรณ์ และเกิดขั้วของเซลล์หลายขั้ว (multipolar cell)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะแอนาเฟส- เทโลเฟส ความผิดปกติในระยะนี้ เกิดการเชื่อมต่อระหว่างโครโมโซม (bridges) ซึ่งการเชื่อมต่อระหว่างโครโมโซมที่เกิดขึ้นนั้นก็มีหลากหลายรูปแบบ เช่น เกิดการเชื่อมติดกันเหมือนสะพานระหว่างโครมาทิน (chromatins bridges) เกิดการจับยึดติดกันแน่นโดยมีบางส่วนของโครโมโซมเชื่อมติดกัน (sticky bridges) รวมทั้งมีจำนวนโครโมโซมมากกว่าปกติ ลักษณะต่าง ๆ เหล่านี้เกิดจาก โครโมโซมเกิดการแตกหัก (breaks) เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมช้ากว่าปกติ เป็นผลมาจากการสร้างสายใยสปินเดิลถูกรบกวน (lagging chromosome) และโครโมโซมแตกหัก ซึ่งในทั้งสองชนิดนี้ก็พบในระยะเมทาเฟสได้ด้วย

Mohanty *et al.* (2003) ศึกษาผลกระทบจากการที่เมล็ดข้าวได้รับสาร $AlCl_3$ เข้มข้น 50 ไมโครโมล และนำเมล็ดไปปลูกลงดิน หลังจากปลูกลงดินได้ 15 วัน จึงนำปลายรากมาศึกษา ลักษณะโครโมโซม พบว่า โครโมโซมจับตัวกันแน่น และเป็นกลุ่มก้อน (stickiness หรือ clumping) ในระยะเมทาเฟส และระยะแอนาเฟสเกิดการเปลี่ยนแปลงช้ากว่าปกติซึ่งเป็นผลมาจากการสร้างสายใยสปินเดิลถูกรบกวน และยังเกิดการเชื่อมต่อระหว่างโครโมโซม (lagging and bridge)

Glińska *et al.* (2007) ได้ศึกษาความผิดปกติของเซลล์ปลายรากหอมที่ทดลองปลูกในสารละลาย $Pb(NO_3)_2$ หรือ $Cr(NO_3)_3$ ที่ความเข้มข้น 100 μM พบว่าโลหะหนักเหล่านี้มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การแบ่งตัวของเซลล์ (Mitotic index) ลดลง นอกจากนี้ ยังพบความผิดปกติที่มีผลต่อกิจกรรมการแบ่งเซลล์ เช่น c-metaphases โครโมโซมมีลักษณะยึดติดกันแน่น (sticky) และเกิดการแบ่งตัวของโครโมโซมช้ากว่าปกติ (lagging chromosome) เกิดการเชื่อมต่อกันเหมือนสะพานระหว่างโครโมโซม (chromosome bridges) มี 2 นิวเคลียสในหนึ่งเซลล์ (binucleus cell) micronuclei และ budding nuclei

Karaš *et al.* (2006) ทำการทดลอง *Uncaria tomentosa* (Willd.)DC. เปรียบเทียบการเจริญเติบโต และการแบ่งเซลล์ของรากหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในน้ำสกัดที่มีความเข้มข้น 2, 4, 8 และ 16 mg/mL เป็นเวลา 3, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่า น้ำสกัดจาก *Uncaria tomentosa* (Willd.)DC. มีผลทำให้การแบ่งเซลล์เปลี่ยนแปลง พบการแบ่งเซลล์ในระยะอินเตอร์เฟส และโปรเฟสเพิ่มขึ้น โครโมโซมเกิดการจับตัวรวมกันเป็นกลุ่ม ๆ และ โครโมโซมหดตัว

Marcano *et al.* (2003) ได้ค้นคว้า และวิจัยถึงผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช Maleic hydrazide (MH) ต่อการแบ่งเซลล์ที่บริเวณปลายรากหอม พบว่าความเข้มข้นของสาร และเวลาที่ใช้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการแ่สารกำจัด้วัชพืชเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ mitotic index ลดลง และทำให้โครโมโซมเกิดความผิดปกติ คือ เกิดการเชื่อมต่อกันระหว่างโครโมโซมในระยะแอนาเฟส (anaphase bridges) เกิดการจับตัวกันแน่นเป็นกลุ่ม (stickiness) เกิดโครโมโซมไม่แยกออกจากกัน

ลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดจากโซเดียมคลอไรด์

Radic *et al.* (2005) ทำการศึกษาผลกระทบของ NaCl และ monital ซึ่งมีผลกระทบต่อ การแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญปลายรากของ *Centaurea regusina* L. ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อในอาหาร MS ที่เติม NaCl และ monital แล้วนำปลายรากมาศึกษาโครโมโซม พบว่าเกิดความผิดปกติของโครโมโซม คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมในการแบ่งเซลล์ช้ากว่าปกติ (lagging chromosome) เกิดขั้วของสายใยสปินเดิลหลายขั้ว (multipolar spindle) โครโมโซมมีลักษณะยึดติดกันแน่น (stickiness) และขดเป็นเกลียวพันกัน (chromosome spiralisation) แตกหัก (chromosome breaks) และเกิดการเชื่อมติดกันเหมือนสะพานระหว่างโครโมโซมในระยะแอนาเฟส (chromosome bridge)

Hossain *et al.* (2003) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนรากของต้นเบญจมาศในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม NaCl ความเข้มข้น 0, 50, 75 และ 100 mM โดยความเข้มข้นที่สูงขึ้นจะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของราก การแบ่งเซลล์ และพบความผิดปกติของโครโมโซม คือ เกิด Micronuclei และเกิดการเชื่อมต่อกันระหว่างโครโมโซมคล้ายสะพานเชื่อม ซึ่งเป็นความผิดปกติที่พบในระยะแอนาเฟส (bridges)

ความผิดปกติของนิวคลีโอลัสที่เกิดจากการได้รับสารเคมีบางชนิด

นิวคลีโอลัส เป็นส่วนของนิวเคลียสที่มีลักษณะเป็นก้อน มีลักษณะกลม เล็ก พบเฉพาะเซลล์ของพวกยูคาริโอตเท่านั้น เป็นตำแหน่งที่สามารถย้อมติดสีได้บนโครโมโซม ประกอบด้วย DNA RNA และ โปรตีน ซึ่งจะถูกสร้างขึ้นบนส่วนใดส่วนหนึ่งติดอยู่กับเฉพาะบางส่วนของโครโมโซม เรียกโครโมโซมนี้ว่า นิวคลีโอลาร์โครโมโซม และเรียกบริเวณของโครโมโซมที่ติดกับนิวคลีโอลัสว่า nucleolus organizer regions (NORs)

บริเวณตรงกลางของนิวคลีโอไลต์ มีบทบาทในการทำหน้าที่ถ่ายทอดข้อมูลพันธุกรรม จากโครโมโซมไปยังไซโทพลาสซึม เป็นบริเวณที่มีการสังเคราะห์ ribosome RNA (r-RNA) และ โปรตีน จำนวนนิวคลีโอไลต์ต่ออินเตอร์เฟสนิวเคลียสจะเป็นลักษณะเฉพาะของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้น จำนวนอาจคงที่หรือแปรผันได้ พืชบางชนิดอาจมีจำนวนนิวคลีโอไลต์มากถึง 10 นิวคลีโอไลต์ แต่ ส่วนใหญ่มีเพียงนิวคลีโอไลต์เดียว ในเซลล์ที่มีการสร้างโปรตีนมากมักจะมีนิวคลีโอไลต์ขนาดใหญ่ และจะพบว่านิวคลีโอไลต์จะหายไปในระยะแรกของการแบ่งเซลล์ และปรากฏให้เห็นอีกครั้งใน ระยะเทเลเฟส (นิตยสาร, 2541)

Jiang *et al.* (2000) ได้ทำการทดลองโดยใช้ Cu^{2+} ที่ความเข้มข้น 10^2 - 10^5 M เพื่อศึกษา ผลกระทบที่มีต่อเซลล์ปลายรากของทานตะวัน พบว่า ความเข้มข้นของ Cu^{2+} ตั้งแต่ 10^3 M มีผลทำให้ นิวคลีโอไลต์มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอ พบ จำนวนนิวคลีโอไลต์ต่อหนึ่งนิวเคลียสเพิ่มขึ้น และมี องค์ประกอบของนิวคลีโอไลต์กระจายอยู่ในนิวเคลียส

Gabara *et al.* (1995) พบว่า แคลเซียมส่งผลต่อกิจกรรมของนิวคลีโอไลต์ ที่ได้รับโลหะหนัก ได้แก่ แคดเมียม โครเมียม และตะกั่ว โดยตรวจสอบจากความแตกต่างของจำนวน ขนาดของ เส้นผ่านศูนย์กลาง และกิจกรรมของนิวคลีโอไลต์ โดยใช้เนื้อเยื่อบริเวณรากของถั่วลิสง ซึ่งพบว่า จำนวนของนิวคลีโอไลต์จะเพิ่มขึ้น แต่ขนาดของหนึ่งนิวคลีโอไลต์จะไม่แตกต่างจากผลรวมของ หลาย ๆ นิวคลีโอไลต์รวมกัน

อุปกรณ์ และวิธีการ

อุปกรณ์

1. หอมหัวใหญ่
2. สารเคมี
 - เอทานอล 95%
 - เอทานอล 70%
 - กรดอะเซติก
 - สี Giemsa
 - Silver nitrate
 - น้ำกลั่น
 - EDTA
3. เอนไซม์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่
 - Cellulase (Fluka, สวิตเซอร์แลนด์)
 - Pectinase (Fluka, สวิตเซอร์แลนด์)
4. waterbath (Memmert)
5. บีกเกอร์
6. กระจกตวง
7. หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร
8. เทอร์มอมิเตอร์
9. ปากคีบปลายแหลม
10. หลอดหยด
11. สไลด์
12. กล้องจุลทรรศน์ (Olympus, ญี่ปุ่น)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมรากหอมหัวใหญ่

นำหอมหัวใหญ่จำนวน 30 หัว ตัดบริเวณฐานของหอมหัวใหญ่ แฉในน้ำกลั่น โดยให้บริเวณที่ตัดสัมผัสกับน้ำ เมื่อหอมหัวใหญ่มีรากยาวประมาณ 2.0 ± 0.5 เซนติเมตร (2 วัน) นำไปปลูกในสารละลาย NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 0, 40, 80, 120 และ 160 mM เป็นเวลา 2 วัน จึงตัดรากเพื่อนำมาศึกษาโครโมโซม

2. การเตรียมรากหอมหัวใหญ่เพื่อนำมาศึกษาโครโมโซม

ใช้มีดที่คม และสะอาดตัดปลายรากหอมหัวใหญ่ ในช่วงเวลา 8.30 น. ตัดเลือกลักษณะรากที่อวบ และสมบูรณ์ โดยตัดให้รากมีความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร แฉในสารเคมีคงสภาพเซลล์ (Fixation) ที่ประกอบด้วยเอทานอล 95 % และ acetic acid ในอัตราส่วน 3:1 แชรากในสารเคมีเพื่อคงสภาพเซลล์ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8-12 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำมาล้างด้วยเอทานอล 70 % 2 ครั้ง เก็บปลายรากในเอทานอล 70 % และเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น

3. การเตรียมสไลด์เพื่อศึกษาโครโมโซมด้วยวิธีการย่อยด้วยเอนไซม์ (สมศักดิ์ และสุมน, 2543)

3.1 ล้างสไลด์ด้วยแอลกอฮอล์ 95 % ผึ่งให้แห้ง

3.2 ตัดรากให้มีความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำมาย่อยผนังเซลล์ด้วยเอนไซม์ที่ประกอบด้วย Pectinase 6%, Cellulase 8 % และ EDTA 1% (pH 8) ปรับ pH เป็น 4.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 นาที

3.3 ดูดเอนไซม์ออกจากหลอดทดลอง และเติมน้ำกลั่นใส่ลงในหลอดทดลอง เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์

3.4 คีบปลายรากออกจากหลอดทดลองวางบนสไลด์ หยคน้ำยา Fixation ที่แช่เย็น

3.5 ขยี้เซลล์ปลายรากให้ทั่วแผ่นสไลด์ด้วยปากคีบปลายแหลม ทิ้งไว้ให้แห้ง

3.6 เมื่อสไลด์แห้งนำมาย้อมสี Giemsa เป็นเวลา 8 นาที

3.7 นำสไลด์ไปล้างผ่านน้ำก๊อก เปิดน้ำให้ไหลผ่านเบา ๆ

3.8 ผึ่งสไลด์ให้แห้ง นำมาศึกษาการแบ่งเซลล์ของรากหอมหัวใหญ่ภายใต้กล้อง

จุดทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การเตรียมสไลด์เพื่อศึกษาลักษณะของนิวคลีโอไลส

4.1 การเตรียมสไลด์ใช้วิธีเดียวกับการเตรียมสไลด์เพื่อศึกษาโครโมโซมด้วยวิธีการย่อยด้วยเอนไซม์ (สมศักดิ์ และสุมน, 2543) ตามข้อ 3.1 - 3.5

4.2 นำสไลด์ที่ได้มาขัดด้วยสี silver nitrate 50 % และปิดด้วย cover slip

4.3 นำไปอบในกล่องขึ้น ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.30 ชั่วโมง

4.4 ล้างสไลด์ผ่านน้ำก๊อก เปิดน้ำให้ไหลผ่านเบา ๆ

4.5 ผึ่งสไลด์ให้แห้ง แล้วนำมาศึกษานิวคลีโอไลสภายใต้กล้องจุลทรรศน์

5. การบันทึกการทดลอง

5.1 การเจริญเติบโตของราก โดยทำการวัดความยาวรากทุกวัน

5.2 ศึกษาพฤติกรรมกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และบันทึกภาพจำนวน 2,000 เซลล์ต่อทรีทเมนต์ นับระยะต่าง ๆ ของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส นำมาคำนวณค่าดังต่อไปนี้

$$\text{Mitotic index (\%)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ในระยะไมโทซิส}}{\text{จำนวนเซลล์ที่นับได้ทั้งหมด}} \times 100$$

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

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

$$\text{ปริมาตรของนิวเคลียส (\mu\text{m})}^3 = \frac{4}{3} \pi r^3$$

เมื่อ π คือ ค่าคงตัว มีค่าเท่ากับ 3.14

r คือ รัศมีของวงกลม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 นับจำนวนนิวคลีโอลัส วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง จำนวน 150 เซลล์ต่อทริทเมนต์ และบันทึกภาพ นำค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของนิวคลีโอลัสมาคำนวณ ดังต่อไปนี้

$$\text{พื้นที่นิวคลีโอลัส } (\mu\text{m})^2 = \pi r^2$$

เมื่อ π คือ ค่าคงตัว มีค่าเท่ากับ 3.14

r คือ รัศมีของวงกลม

6. เวลา และสถานที่ทำการทดลอง

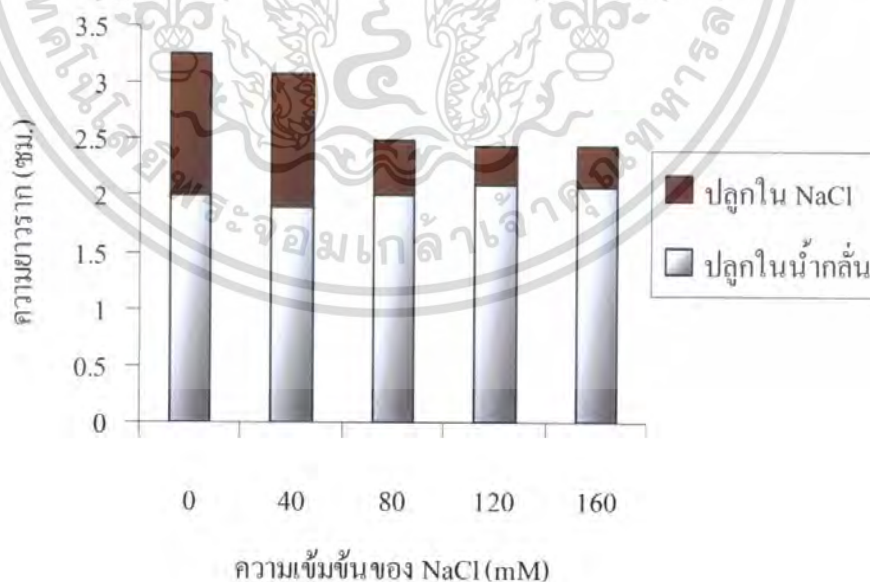
เวลา	เริ่มทำการทดลอง	15 ตุลาคม 2550
	สิ้นสุดการทดลอง	18 มกราคม 2551
สถานที่	ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การเจริญเติบโตของหอมหัวใหญ่

ในการทดลองปลูกหอมหัวใหญ่ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 2 วัน โดยให้มีความยาวรากประมาณ 2 เซนติเมตร จึงนำมาปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เพื่อศึกษาผลของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ต่อความยาวของรากหอมหัวใหญ่ ซึ่งมีผลทำให้ความยาวรากของหอมหัวใหญ่ลดลงตามความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้น และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ทุกความเข้มข้นมีผลแตกต่างในทางสถิติกับชุดควบคุม (น้ำกลั่น) (ภาพที่ 1 และตารางที่ 1) ปลายรากของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 80-160 mM มีสีน้ำตาล ข้ำ และผิวมีลักษณะขรุขระ กว่าปลายรากของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในน้ำบริสุทธิ์ซึ่งจะมีสีขาว ผิวเรียบ และมีขนาดสม่ำเสมอ (ภาพที่2)



ภาพที่ 1 แสดงความยาวรากของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น

แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงความยาวรากของหัวหอมที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้นของ NaCl (mM)	ความยาวรากที่ปลูกในน้ำกลั่น (ซม.)	ความยาวรากที่ปลูกใน NaCl (ซม.)
0	2	3.25 a ^{1/}
40	1.9	3.07 b
80	2	2.49 c
120	2.1	2.44 d
160	2.08	2.43 d

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธีการ Duncan's Multiple Range ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

พฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสของหอมหัวใหญ่

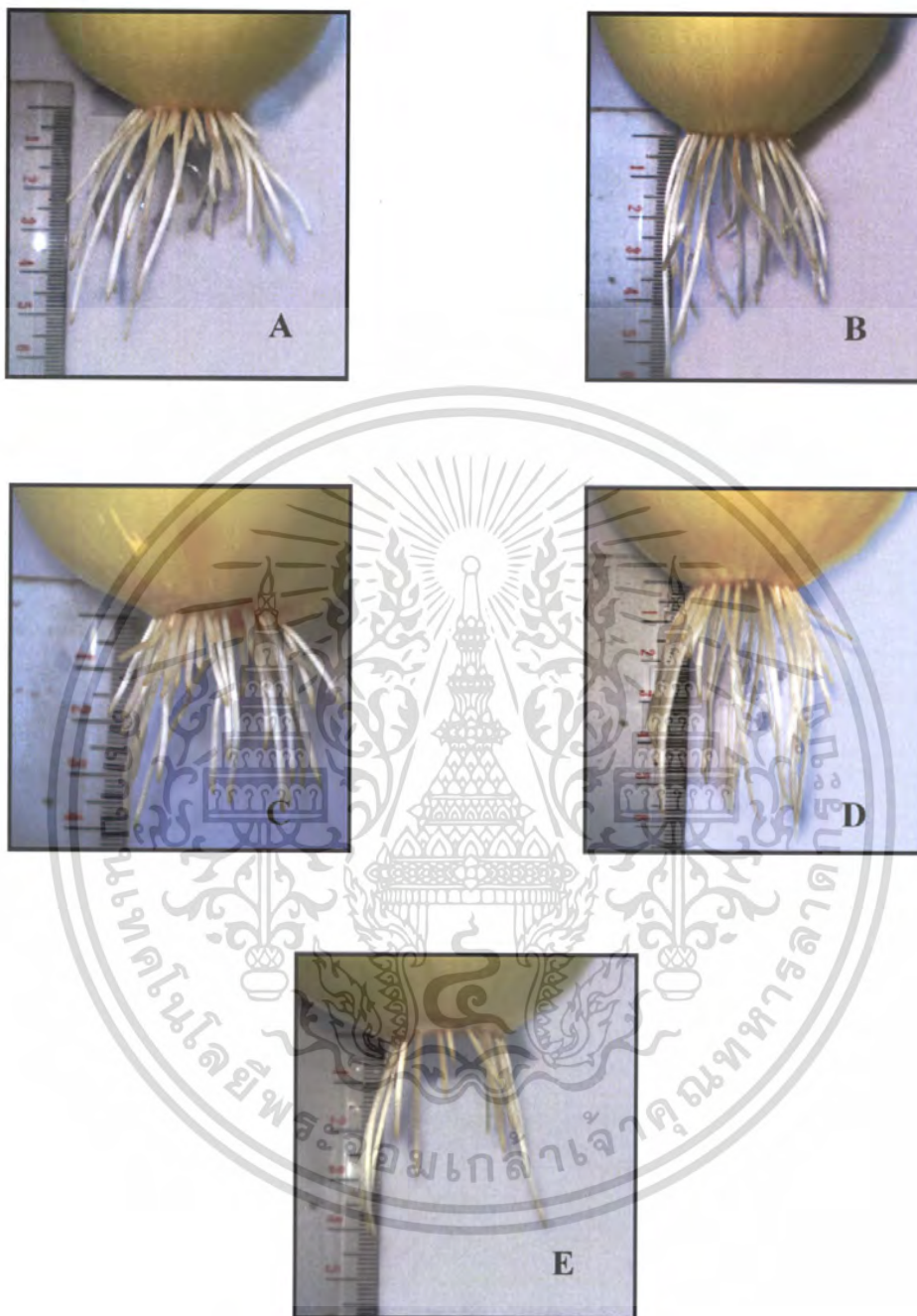
ผลการศึกษาพฤติกรรมการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสของหอมหัวใหญ่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยศึกษาโครโมโซมด้วยวิธีการย้อมด้วยแอนไฮม์ และทำการย้อมสีโครโมโซมด้วยสี Giemsa พบว่า สารละลายโซเดียมคลอไรด์มีผลทำให้ mitotic index ลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ แต่สารละลายโซเดียมคลอไรด์มีค่า mitotic phase ไม่แตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับพฤติกรรมการแบ่งเซลล์ในระยะ mitotic ของรากหอมหัวใหญ่ปกติ (ตารางที่ 2) จากการศึกษาลักษณะของโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมของปลายรากหอมหัวใหญ่ที่ได้รับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ มีความผิดปกติแบบต่าง ๆ คือ ในระยะอินเตอร์เฟส เกิดความผิดปกติของโครโมโซมที่โครมาตินทั้ง 2 ขั้วเซลล์เกิดการแบ่งจำนวนโครมาตินไม่เท่ากัน (unequal) (ภาพที่ 4c, ภาพที่ 5c, ภาพที่ 6c และภาพที่ 7c) การแบ่งนิวเคลียสแยกตัวออกจากกันไม่สมบูรณ์ (budding chromosome) (ภาพที่ 4a, ภาพที่ 5a, ภาพที่ 6a และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 7a) เกิด micronuclei (ภาพที่ 4b, ภาพที่ 5b, ภาพที่ 6b และภาพที่ 7b) และ nucleus disturbance (ภาพที่ 4d, ภาพที่ 5d, ภาพที่ 6d และภาพที่ 7e) โดยที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 120 และ 160 mM พบว่ามีบางส่วนของนิวเคลียสที่ย้อมสีไม่ติด ในระยะเมทาเฟสความผิดปกติของโครโมโซมที่พบ คือ ลักษณะโครโมโซมที่กระจายตัว เนื่องจากเส้นใยสปินเดิลถูกทำลายจนทำให้โครโมโซมไม่สามารถรวมตัวอยู่กึ่งกลางเซลล์ได้ (chromosome disturbance) (ภาพที่ 4e) โครโมโซมอัดตัวกันแน่น (stickiness) (ภาพที่ 4f, ภาพที่ 5f, ภาพที่ 6f และภาพที่ 7f) ระยะแอนาเฟส-เทโลเฟส เกิดการเชื่อมต่อกันคล้ายสะพานระหว่างโครโมโซม (bridges) (ภาพที่ 4g) เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมในการเข้าสู่ระยะแอนาเฟสช้ากว่าปกติ เป็นผลมาจากการสร้างสายใยสปินเดิลถูกรบกวน (lagging chromosome) (ภาพที่ 4h, ภาพที่ 5f และภาพที่ 7d) (ตารางที่ 3) สำหรับปริมาณของนิวเคลียสในระยะอินเทอร์เฟส พบว่าโซเดียมคลอไรด์มีทำให้ปริมาณนิวเคลียสลดลง โดยให้ผลแตกต่างกันในทางสถิติกับชุดควบคุม (ตารางที่ 4)

การเปลี่ยนแปลงทางสัญญาณของนิวคลีโอไลต์ของหอมหัวใหญ่

สำหรับการเตรียมสไลด์เพื่อศึกษานิวคลีโอไลต์ ใช้วิธีการเดียวกับการเตรียมสไลด์ศึกษาโครโมโซมแล้วนำมาย้อมด้วยสี silver nitrate ในเซลล์ปลายรากที่ปลูกในน้ำกลั่นพบนิวเคลียสที่มีสามนิวคลีโอไลต์มากที่สุด รองลงมา คือ นิวเคลียสที่มีสองนิวคลีโอไลต์ และหนึ่งนิวคลีโอไลต์ที่ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ส่วนรากหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ พบว่า นิวเคลียสที่มีสามนิวคลีโอไลต์ลดลงในขณะที่นิวเคลียสที่มีหนึ่ง และสองนิวคลีโอไลต์เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 5) จากการคำนวณพื้นที่ของนิวคลีโอไลต์ที่อยู่ในนิวเคลียส พบว่า ในเซลล์รากหอมหัวใหญ่ปกติ และได้รับสารโซเดียมคลอไรด์ พื้นที่เฉลี่ย และพื้นที่รวมของนิวเคลียสที่มีสองนิวคลีโอไลต์มีค่ามากที่สุด (ตารางที่ 6 และตารางที่ 7) และยังพบว่าในเซลล์รากที่ได้รับโซเดียมคลอไรด์ มีผลทำให้ พื้นที่เฉลี่ย และพื้นที่รวมของนิวคลีโอไลต์ในนิวเคลียสทั้งหมดลดลงตามความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 8-10)



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะรากของหอมหัวใหญ่

- A. ปลูกลงในน้ำกลั่น
- B. ปลูกลงในสารละลาย NaCl เข้มข้น 40 mM
- C. ปลูกลงในสารละลาย NaCl เข้มข้น 80 mM
- D. ปลูกลงในสารละลาย NaCl เข้มข้น 120 mM
- E. ปลูกลงในสารละลาย NaCl เข้มข้น 160 mM

ตารางที่ 2 ค่าดัชนีการแบ่งตัว และเปอร์เซ็นต์ในระยะแบ่งนิวเคลียส ระยะโพรเฟส เมทาเฟส แอนาเฟส และ เทโลเฟส ของเซลล์ปลายรากหอมหัวใหญ่

ความเข้มข้นของ NaCl (mM)	จำนวนเซลล์ที่นับทั้งหมด	จำนวนเซลล์ที่แบ่งตัว	Mitotic Index (%) (X±S.E.)	Mitotic Phase (%) (X±S.E.)			
				Prophase (%)	Metaphase (%)	Anaphase (%)	Telophase (%)
0	2075	595	28.62 a ^{1/}	47.98±8.12	32.97±6.13	7.57±1.88	11.48±1.67
40	2003	166	9.22 b	60.89±7.04	19.45±4.27	8.73±2.58	10.93±2.08
80	2015	144	7.15 b	35.33±9.31	20.64±6.87	21.48±6.42	22.55±4.78
120	2002	71	3.53 b	54.09±12.92	23.70±7.56	12.55±6.51	9.65±2.70
160	2021	58	2.93 b	47.19±10.62	24.19±4.14	7.67±3.71	20.95±12.90
	F-test		*	ns	ns	ns	ns
	CV		58.68%	44.70%	55.32%	89.36%	94.42%

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

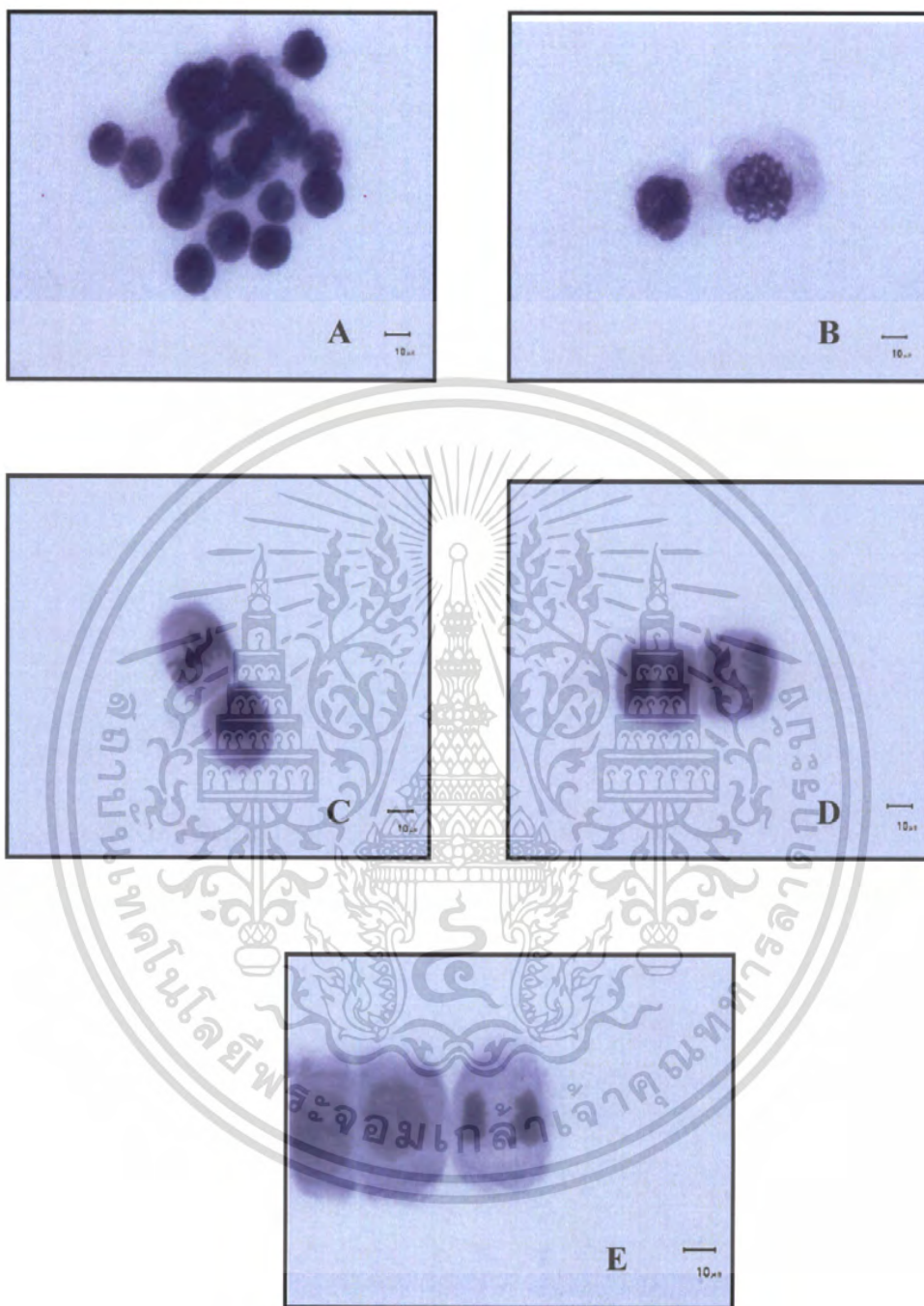
* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธีการ Duncan's Multiple Ranc ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3 ตารางแสดงชนิด และเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดจากสารละลายโซเดียมคลอไรด์

ความเข้มข้นของ NaCl (mM)	จำนวนเซลล์ที่นับทั้งหมด	จำนวนเซลล์ผิดปกติ	Interphase					Mitotic phase			Total abnormal (%) (X±S.E.)
			Budding (%)	Micronuclei (%)	Unequal Nucleus Disturbed (%)	Chromosome Disturbance (%)	Stickiness (%)	Bridge (%)	Lagging (%)		
			control	2075	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
40	2003	1122	0.47	3.52	1.49	37.28	1.67	2.80	1.08	0.22	48.53±12.97b
80	2015	1456	1.21	8.70	4.63	52.22	0.00	4.73	0.00	0.90	72.39±1.76 a
120	2002	1684	11.98	17.55	6.06	47.61	0.00	0.87	0.00	0.00	84.07±2.08 a
160	2021	1711	13.29	23.82	2.96	43.85	0.00	0.52	0.00	0.25	84.69±2.36 a
										F-test	*
										CV	23.25%

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$



ภาพที่ 3 แสดงพฤติกรรมกรรมการแบ่งเซลล์โครโมโซมของหอมหัวใหญ่
ที่ปลูกในน้ำกลั่น(กำลังขยาย 400 เท่า)

A. Interphase

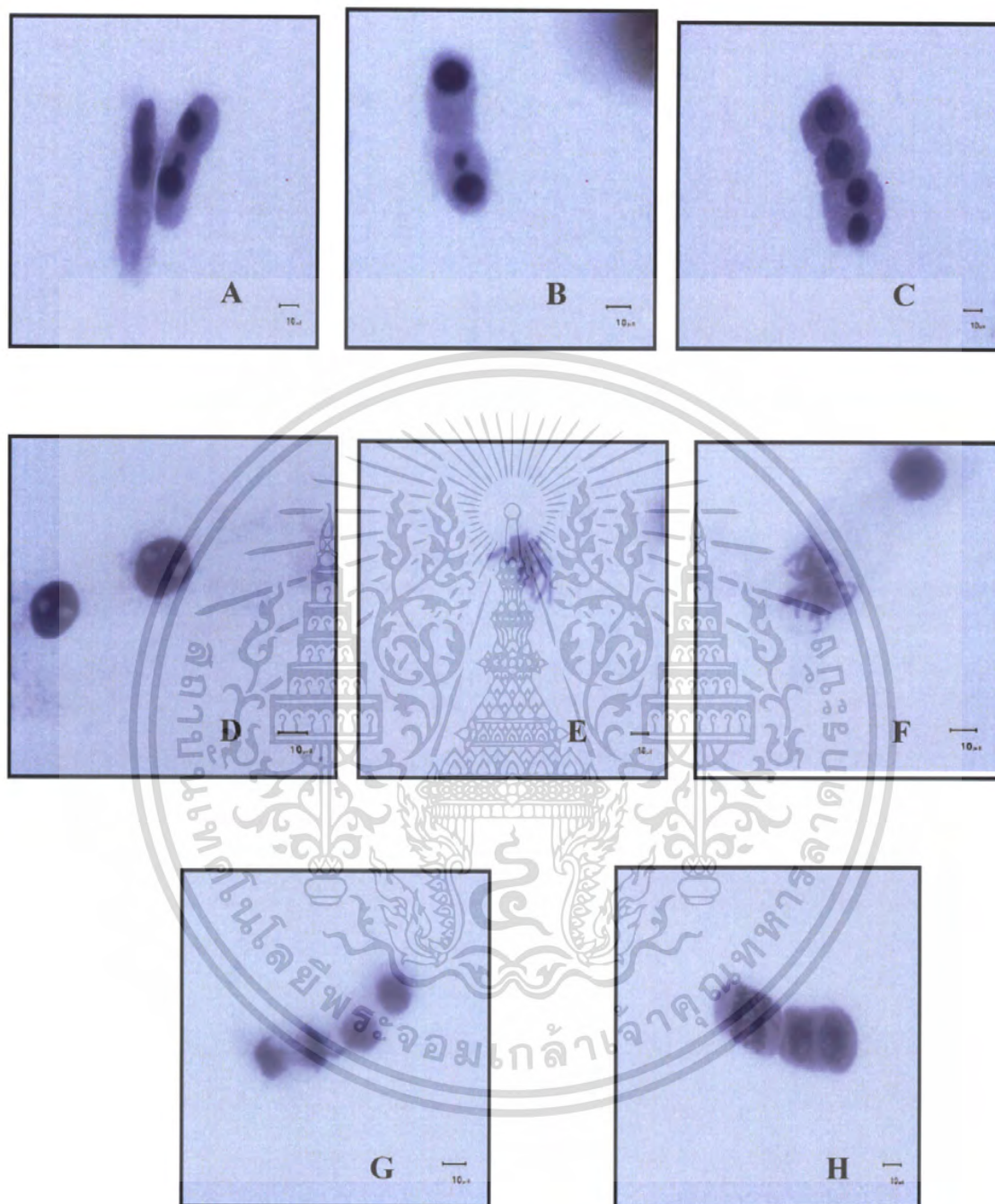
B. Prophase

C. Metaphase

D. Anaphase

E. Telophase

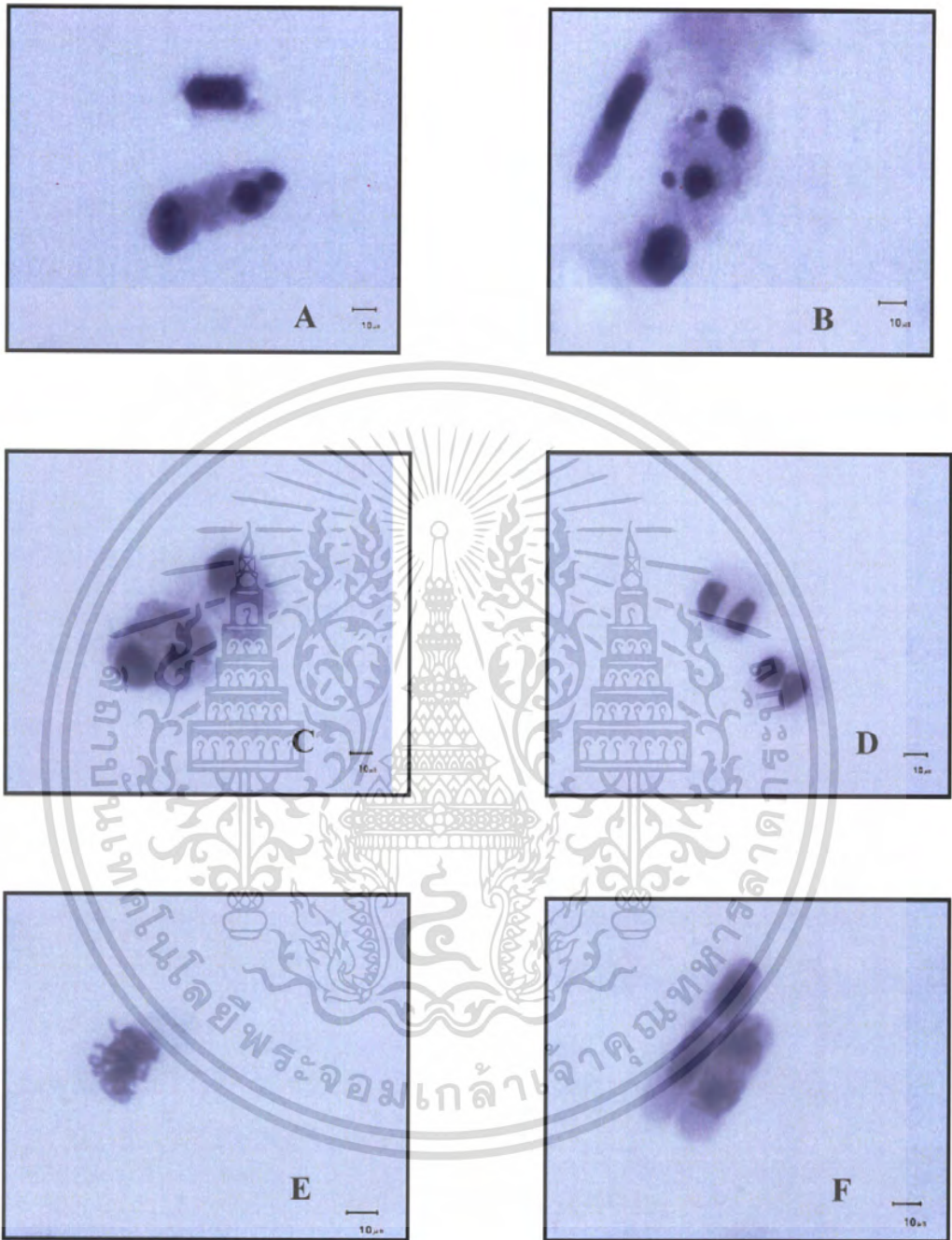
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 แสดงความผิดปกติของโครโมโซมของหมักหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 40 mM (กำลังขยาย 400 เท่า)

- | | | |
|------------------------|---------------------------|---------------|
| A. Budding | B. Micronuclei | C. Unequal |
| D. Nucleus Disturbance | E. Chromosome Disturbance | F. Stickiness |
| G. Bridge | H. Lagging Chromosome | |

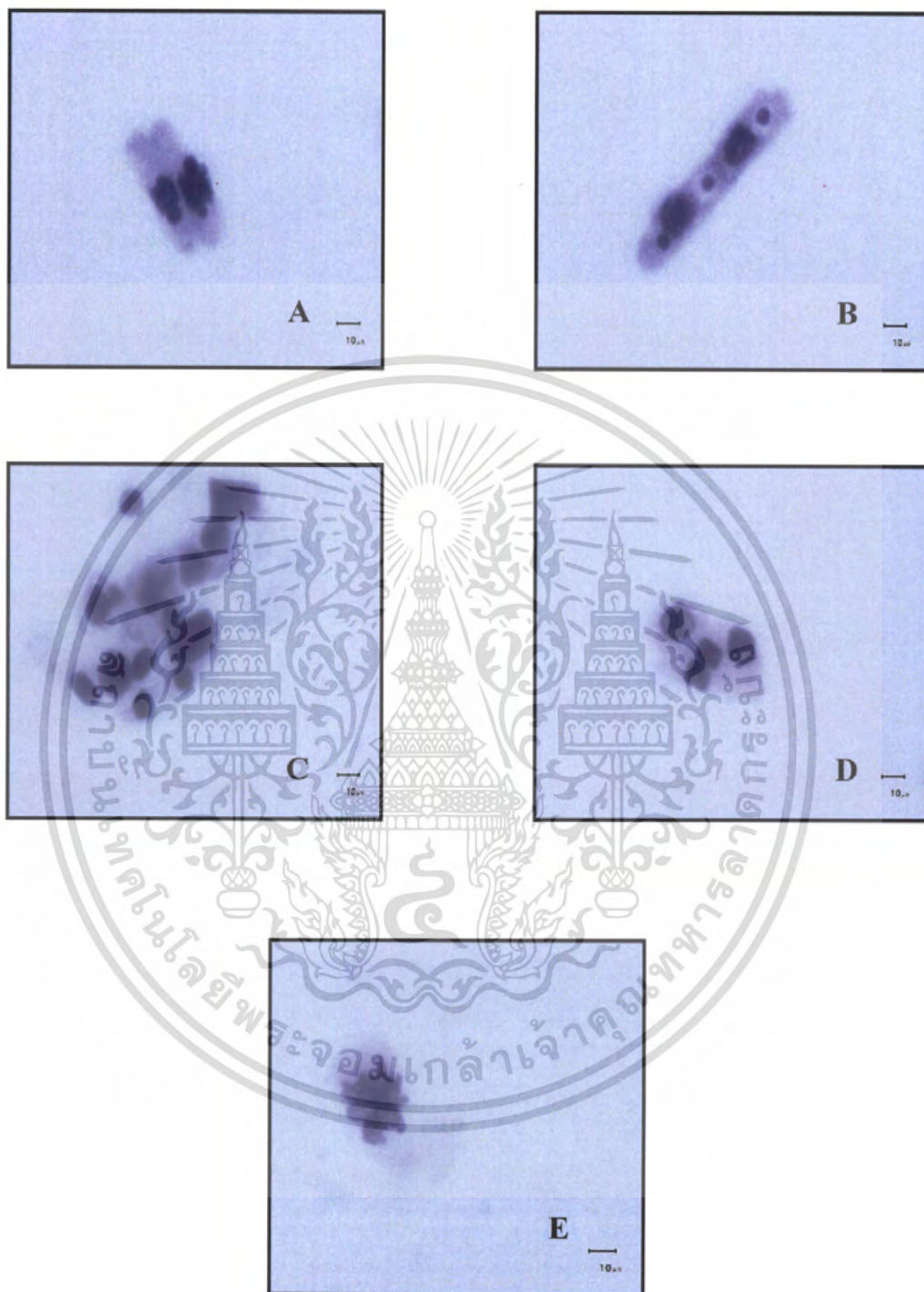
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 แสดงความผิดปกติของโครโมโซมของหมยหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 80 mM (กำลังขยาย 400 เท่า)

- | | | |
|------------------------|----------------|-----------------------|
| A. Budding | B. Micronuclei | C. Unequal |
| D. Nucleus Disturbance | E. Stickiness | F. Lagging chromosome |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 แสดงความผิดปกติของโครโมโซมของหมักหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 120 mM (กำลังขยาย 400 เท่า)

A. Budding

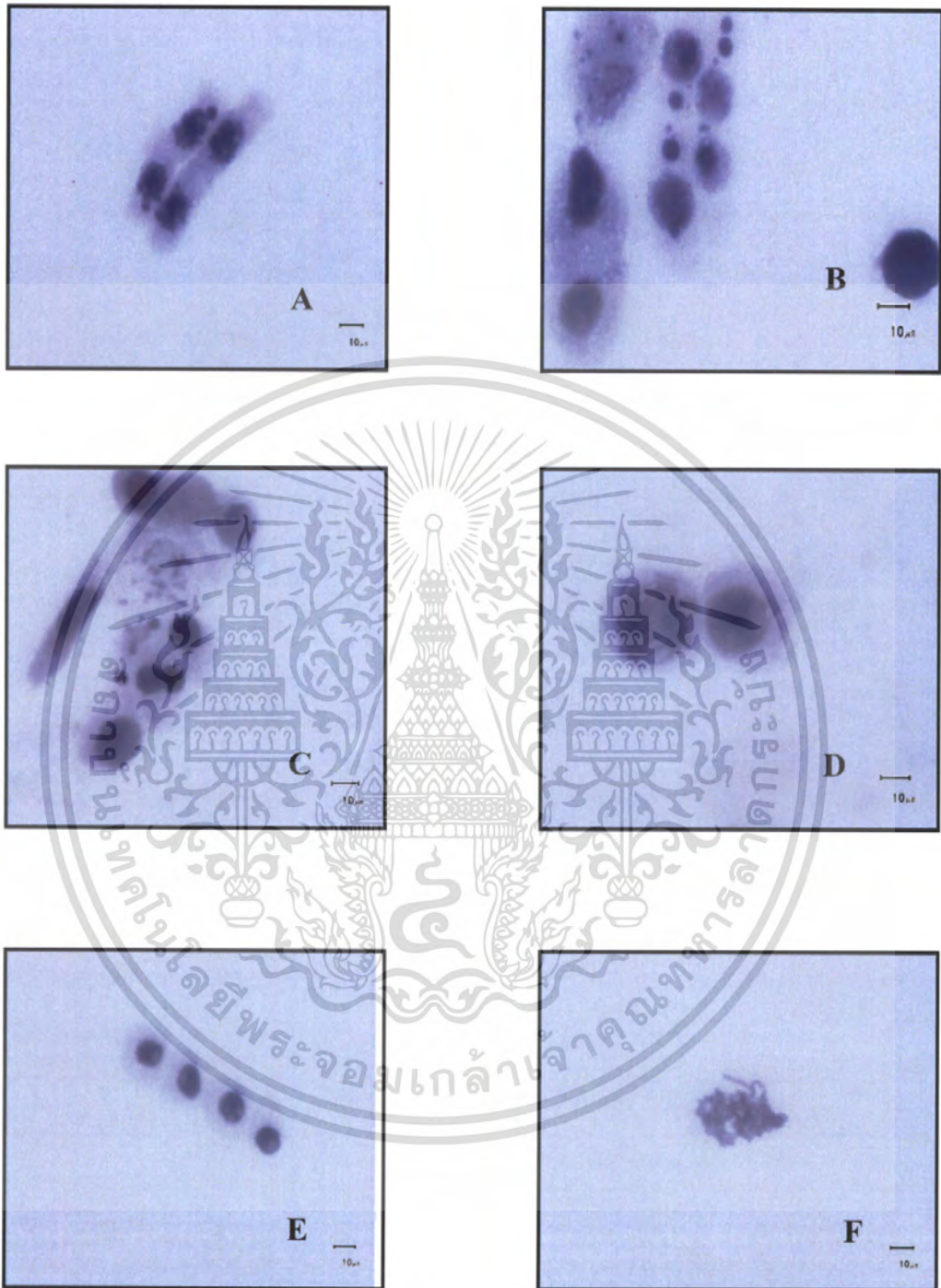
B. Micronuclei

C. Unequal

D. Nucleus Disturbance

E. Stickiness

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 แสดงความผิดปกติของโครโมโซมของหมักหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 160 mM (กำลังขยาย 400 เท่า)

A. Budding

B. Micronuclei

C. Unequal

D. Lagging chromosome

E. Nucleus Disturbance

F. Stickiness

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงปริมาตรของนิวเคลียสในระยะ interphase (interphase nucleolar volum)

ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ

ความเข้มข้นของ NaCl (mM)	ปริมาตรเฉลี่ยของโครโมโซมใน ระยะอินเตอร์เฟส (μm^3)
0	5604.59 a
40	4140.80 b
80	3253.09 c
120	1975.22 d
160	1632.32 d

ตารางที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์ของนิวเคลียสในระยะ interphase ที่มี 1 2 และ 3 นิวคลีโอลัส

ความเข้มข้นของ NaCl (mM)	ความถี่ของจำนวนนิวคลีโอลัส ใน 1 นิวเคลียส ($X \pm S.E.$)		
	1 นิวคลีโอลัส (%)	2 นิวคลีโอลัส (%)	3 นิวคลีโอลัส (%)
0	11.19 \pm 3.06 c ^L	41.03 \pm 100.66 b	47.78 \pm 118.58 a
40	16.53 \pm 1.62 bc	72.33 \pm 173.38 a	11.14 \pm 30.75 b
80	31.22 \pm 5.54 a	45.74 \pm 114.51 b	11.09 \pm 31.27 b
120	27.64 \pm 4.08 ab	64.21 \pm 154.75 a	8.15 \pm 28.40 b
160	17.38 \pm 1.88 bc	75.08 \pm 181.49 a	7.54 \pm 23.72 b
F-test	*	*	*
CV	29.53(%)	15.95(%)	55.95(%)

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน ในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธีการ Duncan's Multiple Range ที่ระดับความเชื่อมั่น

95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงพื้นที่เฉลี่ย 1 นิวคลีโอลัส ต่อ 1 นิวเคลียส

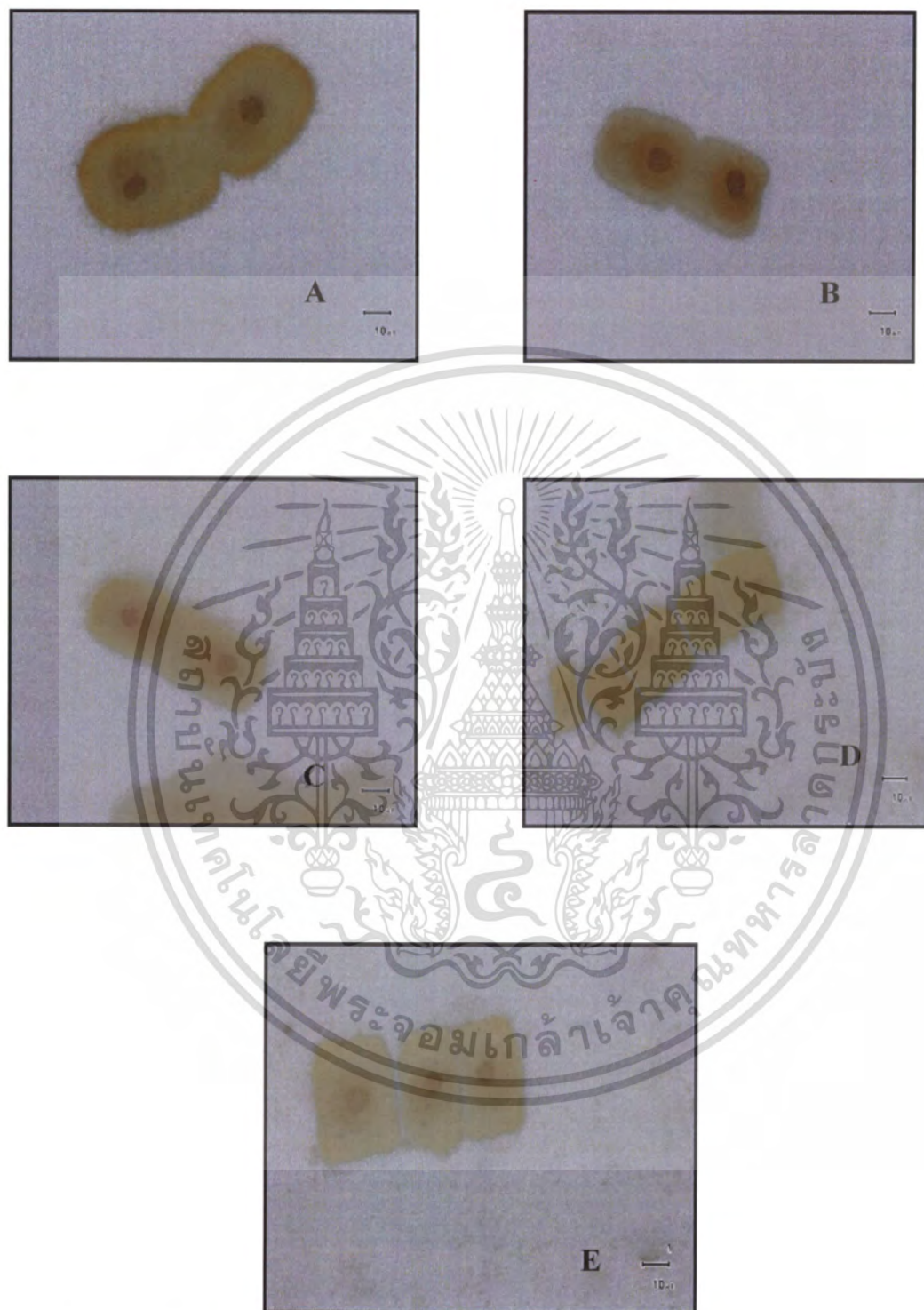
ความเข้มข้นของ NaCl(mM)	ค่าเฉลี่ยพื้นที่นิวคลีโอลัส (μm^2)			ค่าเฉลี่ย
	1 นิวคลีโอลัส	2 นิวคลีโอลัส	3 นิวคลีโอลัส	
0	8.04 a ^L	6.38 c	3.32 fg	5.92 A
40	7.32 b	5.81 cd	2.91 gh	5.34 B
80	5.50 d	3.86 f	2.76 gh	4.04 C
120	4.46 e	2.99 g	2.32 hi	3.25 D
160	2.72 gh	1.97 i	1.91 e	2.20 E
Mean	5.61 A	4.20 B	2.64 C	4.15

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธีการ Duncan's Multiple Range ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 7 แสดงพื้นที่รวมของนิวคลีโอลัสต่อ 1 นิวเคลียสในระยะ interphase

ความเข้มข้นของ NaCl (mM)	พื้นที่รวมของนิวคลีโอลัส (μm^2)			ค่าเฉลี่ย
	1 นิวคลีโอลัส	2 นิวคลีโอลัส	3 นิวคลีโอลัส	
0	8.04 def ^L	12.71 a	9.96 c	10.23 A
40	7.32 ef	11.61 b	8.71 d	9.21 B
80	5.50 hi	7.71 def	8.25 de	7.15 C
120	4.45 ij	5.97 gh	6.93 fg	5.78 D
160	2.78 k	3.92 j	5.73 h	4.15 E
Mean	5.62 B	8.38 A	7.92 A	7.31

1/ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธีการ Duncan's Multiple Range ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 8 แสดงลักษณะนิวเคลียสที่มี 1 นิวคลีโอลัสที่อยู่ในระยะ interphase ของรากหอมหัวใหญ่

A. ปลุกในน้ำกลั่น

B. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 40 mM

C. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 80 mM

D. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 120 mM

E. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 160 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับภายในเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 แสดงลักษณะนิวเคลียสที่มี 2 นิวคลีโอลัสที่อยู่ในระยะ interphase ของรากหอมหัวใหญ่

A. ปลุกในน้ำกลั่น

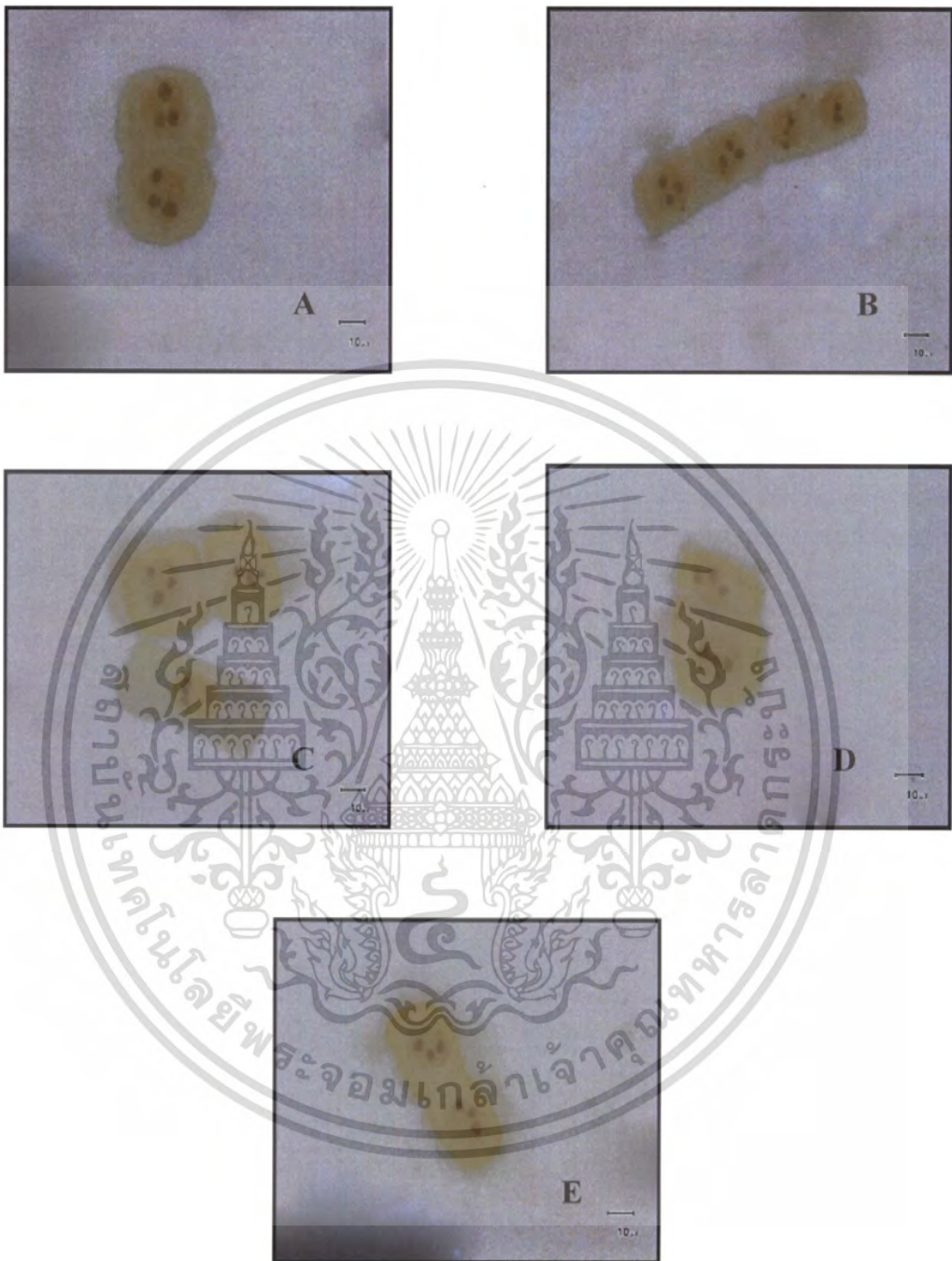
B. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 40 mM

C. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 80 mM

D. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 120 mM

E. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 160 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 แสดงลักษณะนิเวศวิทยามี 3 นิวคลีโอลัสที่อยู่ในระยะ interphase ของรากหอมหัวใหญ่

- | | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| A. ปลุกในน้ำประปา | B. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 40 mM |
| C. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 80 mM | D. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 120 mM |
| E. ปลุกในสารละลาย NaCl เข้มข้น 160 mM | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

อัตราการเจริญเติบโตของรากลดลงตามระดับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ทั้งนี้เนื่องจากความเป็นพิษของธาตุ Na และความเครียดออสโมติก (osmotic stress) มีผลทำให้รากคุดน้ำ และธาตุอาหารได้น้อยลง ทำให้การเจริญเติบโตของราก ลำต้น และใบลดลงไปด้วย (เล็ก, 2540) ลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่พบในการศึกษา คือ budding chromosome, micronuclei, unequal, nucleus disturbance, chromosome disturbance, stickiness, bridges และ lagging chromosome จากรายงานของ Radic *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาผลกระทบของ NaCl และ monitol ต่อการแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญปลายรากของ *Centaurea regusina* L. ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหาร MS ที่เติม NaCl และ monitol นำปลายรากมาศึกษาโครโมโซม พบลักษณะความผิดปกติของโครโมโซม คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมในการเข้าสู่ระยะแอนาเฟส ซ้ำกว่าปกติ (lagging chromosome) โครโมโซมมีลักษณะยึดติดกันแน่น (stickiness) เกิดการเชื่อมติดกันเหมือนสะพานระหว่างโครโมโซมในระยะแอนาเฟส (chromosome bridge) สอดคล้องกับรายงานของ Hossain (2003) ซึ่งทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนรากของต้นเบญจมาศในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม NaCl ความเข้มข้น 0, 50, 75 และ 100 mM โดยพบว่าความเข้มข้นของ NaCl ที่สูงขึ้นจะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของราก การแบ่งเซลล์ และพบความผิดปกติของโครโมโซม คือ Micronuclei และการเชื่อมต่อกันระหว่างโครโมโซมคล้ายสะพานเชื่อม ซึ่งเป็นความผิดปกติที่พบในระยะแอนาเฟส (bridges) เซลล์ปกติโดยทั่วๆ ไปจะพบนิวคลีโอลัสประมาณ 2-3 นิวคลีโอลัส (Gabara *et al.* 1995) ในนิวคลีโอลัสที่มีการสังเคราะห์ rRNA ไรโบโซม และโปรตีนพบนิวคลีโอลัสเป็นจำนวนมาก (Derenzini, 2000) เมื่อเซลล์ได้รับสารเคมีหรือได้รับความเป็นพิษ รวมทั้งโซเดียมคลอไรด์ ทำให้ขนาด และจำนวนนิวคลีโอลัสต่อเซลล์ลดลง แสดงให้เห็นว่านิวคลีโอลัสมีการสังเคราะห์ rRNA ไรโบโซม และโปรตีนลดลง จึงทำให้การแบ่งเซลล์ในไมโทซิสลดลงตามไปด้วย

•

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

ในการทดสอบความเป็นพิษของไซเดียมคลอไรด์โดยวิธีการ Allium test พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของรากจะลดลงผกผันกับความเข้มข้นของสารละลายไซเดียมคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้น และให้ผลเช่นเดียวกับค่าดัชนีการแบ่งตัวของเซลล์ที่มีแนวโน้มลดลงเรื่อย ๆ ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารละลายไซเดียมคลอไรด์ ในทุกความเข้มข้นของไซเดียมคลอไรด์มีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์ในระยะ mitotic ความผิดปกติของโครโมโซมที่พบในการศึกษา คือ budding chromosome, micronuclei, unequal, nucleus disturbtion, chromosome disturbtion, stickiness, bridges และ lagging chromosome ความผิดปกติของโครโมโซมที่พบมากที่สุด คือ nucleus disturbtion สารละลายไซเดียมคลอไรด์ยังมีผลต่อทำให้จำนวนนิวเคลียสที่มี 2 นิวคลีโอไลต์ และนิวเคลียสที่มี 1 นิวคลีโอไลต์เพิ่มขึ้น แต่นิวเคลียสที่มี 3 นิวคลีโอไลต์มีจำนวนลดลง ปริมาตรของนิวเคลียสในระยะอินเตอร์เฟส ค่าเฉลี่ยของพื้นที่ของนิวคลีโอไลต์ และพื้นที่รวมของนิวเคลียสมีค่าลดลงผกผันกับความเข้มข้นของสารละลายไซเดียมคลอไรด์

เอกสารอ้างอิง

ฐานข้อมูลเพื่อการพัฒนาประเทศ. 2551. ปัญหาที่เกี่ยวข้องกับดิน และที่ดินในประเทศไทย
แหล่งที่มา : <http://www.rakbankerd.com>, 21 มีนาคม 2551.

นิตยศรี แสงเดือน. 2541. พันธุศาสตร์พืช. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 295 น.

เล็ก มอญเจริญ. 2540. ความสัมพันธ์การเจริญเติบโตของพืช, น. 259-268. ใน สมศรี อรุณินท์, ผู้
รวบรวม. ดินเค็ม. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตร และสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สมศักดิ์ อภิสัทธาวิช และสุนน มาสุรน. 2543. การศึกษาโครโมโซมพืชด้วยการย่อยเซลล์.
วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 54(3) : 178-183.

สมศรี อรุณินท์. 2539. ดินเค็มในประเทศไทย. กองอนุรักษ์ดินและน้ำ กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวง
เกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 284 น.

Derenzini, M. 2000. The AgNORs. *Micron* 31 : 117-120

Gabara, B., M. Krajewska and E. Stecka. 1995. Calcium effect on number, dimension and activity
of nucleoli in cortex cells of pea (*Pisum sativum* L.) roots after treatment with heavy
metals. *Plant science* 111 : 153-161.

Ghamery, A.E., M.A. El-Kholy and M.A. Abou El-Yousser. 2002. Evaluation of cytological
effects of Zn^{2+} in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and
Triticum aestivum L. *Mutation Research* 537 : 29-34.

Glińska, 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

Hossain, Z., A.K.A. Mandal, R. Shukla and S.K. Datta. 2003. NaCl stress - its chromotoxic effects
and antioxidant behavior in roots of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. *Plant
Science*. 166 : 215-220.

Jiang, W., D. Liu and H. Li. 2000. Effects of Cu^{2+} on root growth, cell division, and nucleolus of
Helianthus annuus L. *The Science of the Total Environment* 256 : 59-65.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ว่าลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Krzisnik, N. and S. Muratovic. 2005. Selection of plant bioindicators for cytogenetic bioassays of pollution. Project Summeries for 2004/05. PD0405EN 22 : 265-270.
- Karaś, M., J. Nowakowska, E. Śliwińska, R. Pilarski, R. Ilasz, T. Tykarska, A. Zobel and K. Gulewic. 2006. Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium Test* induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. *Journal of Ethnopharmacology* 107 : 211–221
- Liu, D., W. Jiang, W. Wang, F. Zhao and C. Lu. 1994. Effects of lead on root growth, cell division, and nucleolus of *Allium cepa* L. *Environmental Pollution* 86 : 1–4.
- Marcano, L., I. Carruyo, A. Del Campo, and X. Montiel. 2003. Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. *Environmental Research* 94 : 221–226
- Mohanty, S., A.B. Das and P. Mohanty. 2004. Effect of a low dose of aluminum on mitotic and meiotic activity, 4C DNA content, and pollen sterility in rice, *Oryza sativa* L. cv. Lalat. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 39 : 70-75.
- Munn, R. and A. Termaat. 1986. Whole plant responses to salinity. *Austral. Journal Plant Physiology* 13 : 143-160.
- 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.
- Radic, S., M. Prolic, M. Pavlica and B. Pevalek-Kozlina. 2005. Cytogenic effects of osmotic stress on the root meristem cell of *Centaurea ragusina* L. *Environmental and Experimental Botany* 54 : 213-218.
- Walker, R.R., D.H. Blackmore., P.R. Clingeffer and R.L. Correll. 2002. Rootstock effect on salt tolerance of irrigated field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana). 1. Yeild and vigour interrelationships. *Austral. Journal of Grape and Wine Research* 8(1) : 3-4.
- Zoldos, V., Z. Vidakovic-cifrek, M. Tomic and D. Papes. 1997. Oil and gas industrial chemicals' cytotoxicity studied by *Allium test*. *Water, Air and Soil Pollution* 94 : 181-190.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงความยาวรากของหอมหัวใหญ่ที่ปลูกในสารละลาย
โซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	4	3.747	0.937	502.49	2.76	4.17
Ex.Error	25	0.047	0.002			
Total	29	3.793	0.131			

Grand Mean = 2.74

CV = 1.58 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

ตารางผนวกที่ 2 วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของการแบ่งเซลล์รากหอมหัวใหญ่
(Mitotic index)

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	4	2235.33	558.83	15.33*	2.87	4.42
Ex.Error	20	728.90	36.44			
Total	24	2964.23	123.51			

Grand mean = 7.96

CV = 10.86 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

ตารางผนวกที่ 3 วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของความผิดปกติของเซลล์รากหอมหัวใหญ่ที่
ปลูกในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	4	25275.50	6318.88	34.84*	2.87	4.42
Ex. Error	20	3626.89	181.34			
Total	24	28902.39	1204.27			

Grand mean = 57.93

CV = 23.25*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่ควรนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของการแบ่งเซลล์ในระยะ Prophase ของเซลล์
หอมหัวใหญ่ (Mitotic Phase ไม่นับระยะ interphase)

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	4	1793.09	448.27	0.93 ^{ns}	2.87	4.42
Ex.Error	20	9634.74	481.74			
Total	24	11427.83	476.16			

Grand mean = 49.10

CV = 44.70 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 5 วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของการแบ่งเซลล์ในระยะ Metaphase ของเซลล์
รากหอมหัวใหญ่ (Mitotic Phase ไม่นับระยะ interphase)

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	4	562.49	140.62	0.79 ^{ns}	2.87	4.42
Ex.Error	20	3581.18	179.06			
Total	24	4143.67	172.65			

Grand mean = 24.19

CV = 55.32 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 6 วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของการแบ่งเซลล์ในระยะ Anaphase ของเซลล์
รากหอมหัวใหญ่ (Mitotic Phase ไม่นับระยะ interphase)

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	4	692.59	173.15	1.61 ^{ns}	2.87	4.42
Ex.Error	20	2148.93	107.45			
Total	24	2841.51	118.40			

Grand mean = 11.60

CV = 89.36 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7 วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงผลของการแบ่งเซลล์ในระยะ Telophase ของเซลล์ รากหอมหัวใหญ่ (Mitotic Phase ไม่นับระยะ interphase)

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	4	749.45	187.36	0.92 ^{ns}	2.87	4.42
Ex.Error	20	4073.50	203.68			
Total	24	4822.94	200.96			

Grand mean = 15.11

CV = 94.42 %

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 8 ปริมาตรโครโมโซมในระยะ interphase

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	4	52770490.06	13192622.51	69.83*	2.87	4.42
Ex.Error	20	3778347.40	188917.37			
Total	24	56548837.46	2356201.56			

Grand Mean = 3321.20

CV = 13.09 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

ตารางผนวกที่ 9 วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงจำนวนนิวเคลียสที่มี 1 นิวคลีโอไล์ในเซลล์รากหอมหัวใหญ่

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	4	833.01	208.25	5.52*	3.48	5.99
Ex. Error	10	377.02	37.70			
Total	14	1210.02	86.43			

Grand mean = 20.79

CV = 29.53 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 10 วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงจำนวนนิวเคลียสที่มี 2 นิวคลีโอไลต์ในเซลล์ราก
หอมหัวใหญ่

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	4	2880.27	720.07	7.95*	3.48	5.99
Ex.Error	10	906.07	90.61			
Total	14	3786.3394	270.4528			

Grand mean = 59.68 CV = 15.95 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

ตารางผนวกที่ 11 วิเคราะห์ผลทางสถิติแสดงจำนวนนิวเคลียสที่มี 3 นิวคลีโอไลต์ในเซลล์ราก
หอมหัวใหญ่

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	4	3553.28	888.32	9.66*	3.48	5.99
Ex.Error	10	919.79	91.98			
Total	14	4473.07	319.51			

Grand mean = 17.14 CV = 55.95 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

ตารางผนวกที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ยพื้นที่นิวคลีโอไลต์ต่อ 1 นิวเคลียส

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	14	166.759	11.911	97.99*	2.01	2.70
A x B	8	18.407	2.301	18.93*	2.27	3.17
ERROR	30	3.647	0.127			
TOTAL	44	170.406	3.87			

Grand Mean = 4.15 CV = 8.40 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเห็นประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 13 แสดงผลรวมพื้นที่นิวกลีโอลัส

Source	df	SS	MS	F-test	F.05	F.01
Treatment	14	318.075	22.72	57.12*	2.01	2.70
A x B	8	31.365	3.9206	9.86*	2.27	3.17
ERROR	30	11.933	0.3978			
TOTAL	44	330.01	7.5			

Grand Mean = 7.31

CV = 8.63 %

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้