



การศึกษาแคดเมียมและสารประกอบเชิงซ้อนอินทรีย์ แคดเมียม-กรดฟอสฟอริกต่อความผิดปกติทาง
พันธุกรรมของผักบุ้งจีน

โดย

นางสาวนงนุช กำลั้งแพทย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2550
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การศึกษาแคดเมียมและสารประกอบเชิงซ้อนอินทรีย์แคดเมียม-กรดฟัลวิกต่อความผิดปกติทาง
พันธุกรรมของผักบุงจีน

โดย

นางสาวนงนุช กำลั้งแพทย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

**THE STUDY OF Cd AND ORGANOMETALIC Cd-FA COMPLEXED ON THE
GENOTOXICITY OF *Ipomoea aquatica* FORSK**

**By
Nongruch Gumlungpat**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree
MASTER OF SCIENCE
Department of Environmental Science
Graduate School
SILPAKORN UNIVERSITY
2007**

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การศึกษาแคดเมียมและสารประกอบเชิงซ้อนอินทรีย์ แคดเมียม-กรดฟัลลิกต่อความผิดปกติทางพันธุกรรมของผักบั้งจีน ” เสนอโดย นางสาวนงนุช กำลั้งแพทย์ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตั้งกูร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทิรา สรรมณี

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.กัณฑ์ศรี พงศ์พันธุ์)
...../...../.....

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นันทิรา สรรมณี)
...../...../.....

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ธรรมวานิช)
...../...../.....

48311305 : สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ : แคดเมียม/ความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม/ความผิดปกติของโครโมโซม/กรดฟัลวิก

นางนุช กำลังแพทย์ : การศึกษาแคดเมียมและสารประกอบเชิงซ้อนอินทรีย์ แคดเมียม-กรดฟัลวิกต่อความผิดปกติทางพันธุกรรมของผักบุงจีน. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร.นัทธีรา สรรมณี. 83 หน้า.

เป้าหมายในการศึกษาครั้งนี้เพื่อตรวจสอบผลกระทบของแคดเมียมไอออนเปรียบเทียบกับสารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียม-กรดฟัลวิก (Cd-FA) ที่ทำให้เกิดความผิดปกติทางสารพันธุกรรมต่อการแบ่งเซลล์ปลายรากของผักบุงจีน โดยความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} และ 10^{-10} M เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมา recover เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของแคดเมียมไอออนที่เพิ่มขึ้นตั้งแต่ 10^{-8} M ขึ้นไปสามารถลดค่า Mitotic index (MI) และทำให้ค่า Mitotic aberration (MA) เพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุม DI และ FA อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ในทางตรงกันข้ามแคดเมียมที่ความเข้มข้นต่ำ 10^{-9} - 10^{-10} M ให้ค่า MI สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ผลกระทบที่ขัดแย้งกันทั้งสองแบบนี้จะลดลงเมื่อมี FA ในระบบ แสดงให้เห็นว่าในกรณีนี้สารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียม-กรดฟัลวิกมีอิทธิพลต่อเซลล์และ/หรือมีความสามารถที่จะถูกดูดซับเข้าสู่เซลล์แตกต่างออกไป ดังนั้นลำดับผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ของ MI และ MA จึงเหมือนกันได้แก่ $Cd > Cd-FA > FA$

ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2550

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

48311305: MAJOR: ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEY WORD: CADMIUM/GENOTOXICITY/CHROMOSOME ABERRATION/FULVIC ACID

NONGNUCH GUMLUNGPAT: THE STUDY OF Cd AND ORGANOMETALIC

Cd-FA COMPLEX ON THE GENOTOXICITY OF *Ipomoea aquatica* FORSK. THESIS ADVISOR:

ASST. PROF. NATDHERA SANMANEE., Ph.D. 83 pp.

The purpose of this study was to investigate the effect of cadmium ion (Cd^{2+}) in comparison with the organometallic cadmium-fulvic acid complex (Cd-FA) on the genotoxicity of cell division at *Ipomoea aquatica* Forsk root tips. The concentrations used in this study were 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , and 10^{-10} M with the duration of exposure 24 h following by 48 h recovery period.

The results indicated that increasing concentration of Cd^{2+} starting from 10^{-8} M reduced mitotic index (MI) and enhanced mitotic aberration (MA) significantly difference than the controls—deionized water (DI) and fulvic acid (FA) ($p < 0.05$). In contrast, the very low concentrations of Cd^{2+} 10^{-10} and 10^{-9} M yielded significantly higher MI than the controls ($p < 0.05$). These two contradict effects were reduced in the presence of FA. The Cd-FA in this case had different effect onto the cells and/or ability to be absorbed into the cells. Therefore, the order of magnitude effects onto the cell division of MI and MA were the same which was $\text{Cd} > \text{Cd-FA} > \text{FA}$.

Department of Environmental Science Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2007

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. นัทธีรา สรรพณี ประธานผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และช่วยเหลือตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. กัณษิณี ศรีพงษ์พันธุ์ และ ดร.กมลชนก พานิชการ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนวความคิดตลอดจนคำแนะนำต่างๆ และคอยให้กำลังใจและเอาใจใส่ในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่เป็นกำลังใจและให้ความอนุเคราะห์ให้ใช้ห้องปฏิบัติการเซลล์พันธุศาสตร์ในการทำวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อมที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์ สารเคมี และสถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณพ่ออำนาจ และคุณแม่สมจิตร กาลังแพทย์ และพี่ๆ ที่ได้ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจ และขอขอบคุณ คุณวิบูลย์ เอื้อวงศ์ ที่ให้ทุนทรัพย์ในการศึกษาครั้งนี้ และเป็นกำลังใจ และขอบคุณน้องๆ นักศึกษาทุกท่านที่ให้กำลังใจทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญรูป.....	ฎ
อธิบายคำย่อ.....	ฏ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
สมมติฐานของการศึกษา.....	3
ขอบเขตของการศึกษา	3
วิธีการศึกษา.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
แคดเมียม (Cadmium; Cd)	5
ความเป็นพิษของแคดเมียม	8
ระดับของแคดเมียมที่ทำให้เป็นอันตราย	8
การศึกษาอิทธิพลของแคดเมียม.....	9
การศึกษาอิทธิพลของแคดเมียมที่มีต่อพืช	10
การศึกษาการศึกษาผลกระทบของแคดเมียมต่อสารพันธุกรรมในพืช.....	12
สารอินทรีย์ในแหล่งน้ำ.....	16
ชนิดและองค์ประกอบของสารอินทรีย์.....	17
บทบาทของ FA ในสิ่งมีชีวิต	23
ผักนึ่งจีน	26
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	26

บทที่	หน้า
ประโยชน์ของผักบั้งจีน	27
ลักษณะโครงสร้างของรากพืช.....	27
ระบบของราก.....	28
โครงสร้างภายนอกของราก.....	28
การแบ่งเซลล์.....	30
การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis)	30
การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis).....	33
ลักษณะความผิดปกติของสารพันธุกรรมพืช	33
Micronucleus.....	34
Laggard chromosomes หรือ Vagrant chromosome	34
Chromosome fragment.....	34
Chromosome bridge.....	34
Disturbed chromosome	34
Sticky chromosome.....	34
Chromosome ring.....	34
3 อุปกรณ์และสารเคมี	36
สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย	36
อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย	36
4 วิธีการทดลอง.....	38
วิธีการศึกษา.....	38
การเตรียมเมล็ดพืชสำหรับการทดสอบ.....	38
วิธีการทดสอบสารละลาย Cd, Cd-FA และชุดควบคุม FA กับเมล็ด ผักบั้งจีน	38
วิธีการเก็บรักษาปลายราก.....	40
วิธีการย้อมด้วยสี Aceto-orcein	40
การเก็บผลการทดลอง	41
วิธีการคำนวณ.....	43
วิธีการเปรียบเทียบทางสถิติ	43

บทที่	หน้า
5 ผลการทดลอง.....	44
ผลการทดสอบความผิดปกติต่อสารพันธุกรรม	44
ผลการทดสอบสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA สามารถชักนำให้เกิด MI (%) ในการแบ่งเซลล์ระยะต่าง ๆ บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน ต่อสารพันธุกรรม	44
ผลการทดสอบสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA สามารถชักนำให้เกิด MA (%) ในการแบ่งเซลล์ระยะต่าง ๆ บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน ต่อสารพันธุกรรม	51
การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd, Cd-FA และ ชุดควบคุม 2 แบบ (ได้แก่ DI และ FA) สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีนในระยะต่างๆ	57
การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd, Cd-FA และชุดควบคุม DI, FA สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของสารพันธุกรรม บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน	60
6 อภิปรายผลการทดลอง	65
บรรณานุกรม.....	68
ภาคผนวก	73
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมี	74
ภาคผนวก ข ตารางแสดงผลการทดลอง.....	78
ประวัติผู้วิจัย	82

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่า Bioconcentration Factors สำหรับ Cd	6
2	ปริมาณของแคดเมียมที่ตรวจพบในแหล่งน้ำของประเทศไทยระหว่างปี 2526-2530.....	7
3	ปริมาณแคดเมียมที่มีการปนเปื้อนในอาหาร.....	9
4	ปริมาณโลหะในพืช (ppm /นน.แห้ง)	9
5	แสดงคุณสมบัติบางประการและหมู่ functional group ที่เกี่ยวข้องของ HA และ FA	18
6	แสดงค่า K ที่ได้จากการคำนวณ NICA-Donnan Model ของ FA	21
7	แสดงค่า K ที่ได้จากการคำนวณ NICA-Donnan Model ของ HA.....	22
8	รายชื่อสารเคมีและบริษัทผู้จัดจำหน่าย	36
9	รายชื่ออุปกรณ์และบริษัทผู้จำหน่าย	37
10	ผลการทดสอบสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA ที่สามารถชักนำให้เกิด MI บริเวณ ปลายรากของผักนึ่งจีน.....	67
11	ผลการทดสอบสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA ที่สามารถชักนำให้เกิด MA บริเวณ ปลายรากของผักนึ่งจีน.....	67
12	ผลของสารละลาย Cd ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MI บริเวณปลายราก ของผักนึ่งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI.....	79
13	ผลของสารละลาย Cd ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MA บริเวณปลายราก ของผักนึ่งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI.....	79
14	ผลของสารละลาย Cd-FA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MI บริเวณปลาย รากของผักนึ่งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI.....	80
15	ผลของสารละลาย Cd-FA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MA บริเวณปลาย รากของผักนึ่งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI.....	80
16	ผลของสารละลาย FA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MI บริเวณปลายราก ของผักนึ่งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI.....	81
17	ผลของสารละลาย FA ความเข้มข้นต่างๆสามารถชักนำให้เกิด MA บริเวณปลาย รากของผักนึ่งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI.....	81

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	เปรียบเทียบการจับกันของโลหะไอออนโดย FA และ HA ที่ pH 6, I=0.1 M.....	19
2	ลักษณะโครงสร้างของรากพืช.....	29
3	วิฤจกรรมการแบ่งเซลล์.....	31
4	การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสของเซลล์บริเวณปลายรากของโสนกินดอก	32
5	ลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมเซลล์บริเวณปลายรากของโสนกินดอก	35
6	แสดงขั้นตอนการทดสอบกับสารละลาย Cd FA และ Cd-FA	39
7	การทดสอบเมล็ดผักนึ่งจีนในสารละลายทดสอบ	40
8	วิธีการตัดปลายราก	40
9	วิธีการย้อมสีปลายราก	41
10	แสดงขั้นตอนการเตรียมโครโมโซมบริเวณปลายรากผักนึ่งจีน	42
11	ผลของสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MI บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI.....	45
12	ผลรวมการชักนำให้เกิด MI แบบต่าง ๆ บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีนที่ทดสอบด้วยสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI	50
13	ผลของสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MA บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI	54
14	ผลรวมการชักนำให้เกิด MA แบบต่าง ๆ บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีนที่ทดสอบด้วยสารละลาย Cd ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI.....	56
15	การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd, Cd-FA และชุดควบคุม FA ต่อความถี่ในการเกิด MI บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีน.....	58
16	การแบ่งเซลล์ในระยะต่างๆบริเวณปลายรากของผักนึ่งจีน.....	59
17	การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd, Cd-FA และชุดควบคุม FA ต่อความถี่ในการเกิด MA บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีน	61
18	ลักษณะความผิดปกติทางพันธุกรรมบริเวณปลายรากของผักนึ่งจีน.....	63
19	ลักษณะความผิดปกติทางพันธุกรรมบริเวณปลายรากของผักนึ่งจีน.....	64

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันปัญหามลพิษส่วนใหญ่เกิดจากการพัฒนาทางด้านเศรษฐกิจ เทคโนโลยี โรงงาน อุตสาหกรรม การเกษตร กิจกรรมภายในครัวเรือน และการเพิ่มจำนวนของประชากร ส่วนใหญ่จะปล่อยของเสียเหล่านั้นลงในแหล่งน้ำต่างๆ เช่น ทะเลสาบ แม่น้ำ ลำคลอง และการกระทำของมนุษย์อาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม ซึ่งอาจทำให้มีการปนเปื้อนของโลหะหนักบางชนิด เช่น ปรอท(Hg) ตะกั่ว(Pb) ทองแดง(Cu) นิกเกิล(Ni) เหล็ก(Fe) สังกะสี(Zn) และแคดเมียม(Cd) ที่อาจทำให้เกิดผลกระทบทั้งโดยทางตรงและโดยทางอ้อมต่อมนุษย์ พืช และสัตว์ อย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ ตัวอย่างเช่นปัญหาการปนเปื้อนของแคดเมียมในประเทศไทยที่เกิดจากการถลุงสังกะสีที่จังหวัดตากทำให้ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรไม่สามารถนำมาบริโภคได้ พื้นที่ทางการเกษตรและปศุสัตว์ก็ไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ทำให้เกิดความเสียหายต่อเศรษฐกิจและส่งผลกระทบต่อความเป็นอยู่ของเกษตรกร เป็นต้น

เนื่องจากแคดเมียมเป็นโลหะที่ใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ เช่น การชุบ สังกะสี ยาง หมึกพิมพ์ ต่อเรือ เซรามิก เม็ดพลาสติก ของเด็กเล่น ท่อพีวีซี และเป็นส่วนประกอบในแบตเตอรี่ เป็นต้น ทำให้มีแนวโน้มการปนเปื้อนแคดเมียมลงสู่สิ่งแวดล้อมมากขึ้น เช่น ในกรณีการปนเปื้อนแคดเมียมของห้วยแม่ดาว จังหวัดตากที่เกิดจากการปล่อยน้ำจากเหมืองซึ่งเมื่อมนุษย์หรือสัตว์สัมผัสหรือได้รับแคดเมียมไม่ว่าจากการใช้หรือจากของเสียที่ทิ้งลงสู่สิ่งแวดล้อม ทำให้มีผลต่อสุขภาพโดยตรง สำหรับมนุษย์นั้นแคดเมียมสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ 2 ทางคือ ทางระบบทางเดินอาหารผู้ที่ได้รับแคดเมียมโดยการกินในปริมาณมากก็จะทำให้เป็นโรคอิไต-อิไต (Itai-itai disease) และผู้ที่ได้รับแคดเมียมทางระบบทางเดินหายใจเป็นระยะเวลานานจะทำให้เกิดโรคปอดเรื้อรัง (กรมควบคุมมลพิษ, 2541)

เนื่องจากพืชเป็นสิ่งมีชีวิตที่มักอยู่กับที่ทำให้หลีกเลี่ยงสารพิษได้น้อยกว่าสัตว์ ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีผู้นำพืชมาประยุกต์ใช้ทดสอบความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมจากสารมลพิษในแต่ละท้องถิ่นได้ โดยเฉพาะการตรวจสอบความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมโดยใช้รากเนื่องจากรากมีหน้าที่ในการดูดซับน้ำและแร่ธาตุอาหารเพื่อนำไปใช้ในการเติบโต และบริเวณปลายรากพืชจะมี

การแบ่งเซลล์อยู่ตลอดเวลาเมื่อรากมีความยาวขึ้นสังเกตความผิดปกติได้ง่าย นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่มีราคาถูก ทดลองง่าย เป็นที่นิยมจึงมีผู้ที่ใช้ทดสอบความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของสารต่างๆ โดยใช้รากเป็นจำนวนมาก (Panda *et al.*, 1997; Zhang and Xiao, 1998; Jiang *et al.*, 2000; El-Shahaby *et al.*, 2003; Gichner *et al.*, 2004; Ivanova *et al.*, 2005) ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเป็นการศึกษามลพิษทางน้ำโดยใช้พืชน้ำที่มีความไวต่อการตอบสนองของแคดเมียมไอออนและเป็นพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่นที่หาได้ง่าย ซึ่งพบว่าผักบุ้งจีน (*Ipomoea aquatica* Forsk) ซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นเศรษฐกิจของไทยมีความเหมาะสมสำหรับการทดลองนี้ อีกทั้งยังเป็นพืชที่คนไทยนิยมบริโภคในครัวเรือนและยังเป็นพืชเศรษฐกิจอีกด้วย

ในแหล่งน้ำธรรมชาติจะมีสารอินทรีย์ที่สำคัญอยู่หลายชนิดและที่พบมากที่สุด คือ สารฮิวมิก (humic substance) ซึ่งประกอบด้วยกรดฮิวมิก (humic acid; HA) กรดฟัลวิก (fulvic acid; FA) และฮิวมิน (humic) พบว่า FA มีขนาดโครงสร้างเล็กที่สุดสามารถละลายน้ำได้และมีปริมาณหมู่ฟังก์ชันมากที่สุดสามารถเกิดปฏิกิริยากับโลหะไอออนได้ดี (Bio Ag Technologies International, 1999) โดยสารประกอบเชิงซ้อนอินทรีย์แคดเมียม-กรดฟัลวิก (Cd-FA) นี้จะอยู่ในรูปที่ละลายน้ำด้วย และ FA อาจจะช่วยลดความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของโลหะต่อสิ่งมีชีวิตด้วยกระบวนการดูดซับและจับกับแคดเมียมไอออน (Wightman and Fein, 2001) อย่างไรก็ตามก็มีส่วนของแคดเมียมไอออน (Cd^{2+}) และ Cd-FA ที่ละลายน้ำอยู่ในประเทศไทยยังมีได้มีผู้ใดทำการศึกษาว่าจะมีอิทธิพลต่อความผิดปกติทางพันธุกรรมของผักบุ้งจีนอย่างไร ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้พืชน้ำที่คนไทยนิยมบริโภคและเป็นพืชเศรษฐกิจของไทยนำมาใช้ศึกษาความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของแคดเมียมไอออนทั้งสองรูปแบบว่ามีความเหมือนหรือต่างกันอย่างไร ซึ่งความรู้ที่ได้นี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ทำนายระดับความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของแคดเมียมไอออนในแหล่งน้ำของไทยได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารละลายแคดเมียมไอออนต่อการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมของเซลล์บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน
2. เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารละลาย Cd-FA ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมของเซลล์บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน
3. เพื่อศึกษาอิทธิพลของ FA ที่มีต่อความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของแคดเมียมไอออนต่อการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมของเซลล์บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน

4. เพื่อใช้พืชที่หาง่ายในท้องถิ่นของไทยเป็นโมเดลในการตรวจสอบคุณภาพของแหล่งน้ำของประเทศได้ในอนาคต

สมมติฐานของการศึกษา

การทดสอบสารละลายแคดเมียมไอออน, Cd-FA เปรียบเทียบกับชุดควบคุมน้ำกลั่นปราศจากไอออน (deionized water; DI) และชุดควบคุม FA กับเมล็ดผักบุ้งจีนที่กำลังงอกอายุ 3-4 วัน และมีรากยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตรและนำไปทดสอบกับสารละลายเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง และตรวจสอบการแบ่งเซลล์ด้วยวิธี Mitotic index (MI) และตรวจสอบความผิดปกติของโครโมโซมด้วยวิธี Mitotic aberration (MA) เมื่อตรวจสอบสารละลายแคดเมียมไอออน และ Cd-FA ที่ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , และ 10^{-10} M เปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI และชุดควบคุม FA ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , และ 10^{-10} M โดยที่ความเข้มข้นต่ำจะพบการแบ่งเซลล์มากกว่าความเข้มข้นที่สูงกว่า และความเข้มข้นสูงจะพบความผิดปกติของโครโมโซมมากกว่าความเข้มข้นที่ต่ำกว่า

ขอบเขตของการศึกษา

ศึกษาความผิดปกติต่อสารพันธุกรรม (genotoxicity) ในเซลล์บริเวณปลายรากพีระระหว่างแคดเมียมไอออน (Cd^{2+}) เปรียบเทียบกับ Cd-FA ที่เกิดขึ้นจากการเติมสารอินทรีย์กรดฟัลวิกที่สกัดได้จากแม่น้ำ Suwanee river โดยการใช้เมล็ดที่กำลังงอกของผักบุ้งจีนซึ่งเป็นพืชที่หาง่ายและมีอยู่ตามท้องถิ่นที่มีคุณสมบัติไวต่อการตอบสนองความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของแคดเมียมไอออน และ Cd-FA ในการทดลองนี้ใช้แคดเมียมไอออน และ Cd-FA ที่ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M เปรียบเทียบกับชุดควบคุม 2 แบบ ได้แก่ DI, FA โดยความเข้มข้นที่เลือกศึกษานี้อยู่ในช่วงค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดิน ($0.005-0.05$ mg/L หรือ 2.1×10^{-8} - 2.1×10^{-7} M)

วิธีการศึกษา มีลำดับขั้นตอนดำเนินการศึกษาดังนี้

1. ศึกษาและรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของแคดเมียมไอออน และ Cd-FA
2. ทดลองเพาะปลูกพืชแบบ hydroponics ในห้องปฏิบัติการ
3. ทดสอบความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของแคดเมียมไอออน และ Cd-FA เปรียบเทียบกับชุดควบคุม 2 แบบ (ได้แก่ DI และ FA) ในห้องปฏิบัติการ

4. ประเมินความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของแคดเมียมไอออน และ Cd-FA และชุดควบคุม 2 แบบ (ได้แก่ DI และ FA) ด้วยวิธีการตรวจนับ MI และตรวจนับ MA ของเซลล์บริเวณปลายราก โดยรายงานเป็นร้อยละเทียบกับเซลล์ที่ตรวจนับทั้งหมด
5. วิเคราะห์ข้อมูล
6. เขียนรายงาน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบความเข้มข้นของแคดเมียมไอออน และ Cd-FA ที่ทำให้เกิดความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของเซลล์บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีน
2. ทราบอิทธิพลของ FA ที่มีต่อการเพิ่มหรือลดความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของแคดเมียมไอออนที่มีต่อความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของเซลล์บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีน
3. สามารถใช้ผักนึ่งจีนเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเป็นดัชนีทางชีวภาพ (Bioindicator) สำหรับการตรวจสอบคุณภาพในแหล่งน้ำต่างๆ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แคดเมียม (Cadmium; Cd)

Cd เป็นโลหะหนักชนิดหนึ่งที่มีลักษณะสีขาวเงินอยู่ในหมู่ IIB ของตารางธาตุ มีจุดหลอมเหลว 320.9°C จุดเดือด 769°C (Dart, 2004) มีอะตอมมิกนัมเบอร์ 48 น้ำหนัก 112.40 กรัม ค่าความถ่วงเฉพาะ 8.65 Cd มีน้ำหนักค่อนข้างเบาจึงทำให้อ่อนและโค้งงอได้ง่าย ซึ่งเป็นโลหะที่ไม่ละลายในน้ำแต่สามารถละลายได้ในกรดอ่อนๆ สารประกอบที่พบทั่วไปได้แก่ แคดเมียมคลอไรด์ (CdCl_2) แคดเมียมไนเตรต ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$) และแคดเมียมซัลเฟต (CdSO_4) สารประกอบ Cd เหล่านี้สามารถละลายในน้ำได้ดี และยังเป็นสารที่ไม่มีสี (กรมควบคุมมลพิษ, 2541) Cd เป็นโลหะหนักที่พบบนผิวโลกมีปริมาณน้อยประมาณ $0.15\text{-}0.20 \mu\text{g}/\text{kg}$ หรือ $0.65 \times 10^{-9} - 0.87 \times 10^{-9} \text{ M}$ ในหินแกรนิตมี Cd น้อยกว่า $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ หรือ $0.4 \times 10^{-9} \text{ M}$ ส่วนในน้ำและตะกอนดินจะเปลี่ยนแปลงไปตามลักษณะการเกิดและสภาวะแวดล้อม (Massaro, 1997) จึงทำให้เป็นอันตรายแบบเฉียบพลันต่อมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ

ในการจัดจำแนกรูปแบบของโลหะ Cd นั้นพบว่า Cd อยู่ในหมู่ IIB ซึ่งมีอิเล็กตรอนชั้นสุดท้าย 10-12 ตัว โลหะกลุ่มนี้ชอบที่จะเกิดสารประกอบกับลิแกนด์ที่มีซัลเฟอร์ ฟอสฟอรัส และไนโตรเจนเป็นผู้ให้อิเล็กตรอน เช่น แอมโมเนีย ซัลไฟด์ ฟอสไฟต์ มากกว่าออกซิเจนที่เป็นผู้ให้อิเล็กตรอน ดังนั้นสารประกอบที่เกิดขึ้นของโลหะกลุ่มนี้กับไซยาไนด์และคลอไรด์ที่มีความคงตัวมากกว่าสารประกอบกับฟลูออไรด์ (นัทธีรา, 2539 และ Stumm, 1996) ซึ่งโลหะในกลุ่ม B นี้มีความจำเพาะต่อตำแหน่งที่จับกันของลิแกนด์ที่มี N/S เป็นผู้ให้อิเล็กตรอน ดังนั้นถ้าสิ่งมีชีวิตที่มี N/S เป็นตำแหน่งที่จับกัน เช่น บริเวณผิวและใต้ผิวของโปรตีนจะสามารถจับกับโลหะในหมู่ B ที่เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนขึ้นได้ตามความเป็นพิษของโลหะต่อสิ่งมีชีวิต เช่น หมู่ซัลไฟด์ลิส่วนใหญ่และสามารถเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ โลหะกลุ่ม B > โลหะทรานซิชัน > โลหะกลุ่ม A (Stumm, 1996)

Cd ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมเนื่องจากมนุษย์ได้นำ Cd มาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางตั้งแต่ศตวรรษที่ 19 ได้มีการผลิต Cd ส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากการถลุงแร่สังกะสี และมีบางส่วนที่

ได้จากอุตสาหกรรมถลุงทองแดง และการถลุงตะกั่ว(Klaassen, 2001) International Agency for Research on Cancer (IARC) ได้รายงานว่าการผลิต Cd ทั่วโลกในปี พ.ศ. 2516 ประมาณ 17,000 ตัน และประเทศไทยได้เริ่มทำการผลิต Cd ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2533 โดยผลิต Cd จากของเหลือจากกระบวนการผลิตของโรงงานถลุงแร่สังกะสีที่จังหวัดตากประมาณเดือนละ 1 ตัน เพื่อนำไปจำหน่ายที่ประเทศญี่ปุ่น ส่วน Cd ที่นำมาใช้ในประเทศไทยได้จากการนำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกา สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน อังกฤษ ออสเตรเลีย และสวีเดน (กรมควบคุมมลพิษ, 2541)

สิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่มีโอกาสที่จะสะสม Cd เนื่องจาก Cd มีสมบัติทางเคมีที่คล้ายกับสังกะสีจึงทำให้ Cd สามารถเข้าไปแทนที่สังกะสีในเอ็นไซม์บางชนิด จึงทำให้การทำหน้าที่ของกระบวนการในสิ่งมีชีวิตเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม Cd สามารถไปสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตในน้ำ ปริมาณที่สูงกว่าที่พบในน้ำตั้งแต่หลายร้อยเท่าจนถึงหลายพันเท่า และในปลาส่วนใหญ่จะเก็บสะสม Cd ไว้ที่ตับ ไต ลำไส้ และเหงือก และที่เนื้อเป็นจำนวนน้อย การได้รับ Cd ของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำกระด้างจะรับเข้าไปได้เร็วกว่าสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำอ่อน แต่ถ้าพิจารณาถึงปริมาณ Cd ทั้งหมดที่ได้รับเข้าไปพบว่าสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำอ่อนสามารถเก็บสะสม Cd เข้าสู่ร่างกายมากกว่าในน้ำกระด้าง (กรมควบคุมมลพิษ, 2541) จากตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเลสามารถสะสม Cd ได้มากที่สุด

ตารางที่ 1 ค่า Bioconcentration Factors สำหรับ Cd

ประเภทของสิ่งมีชีวิต	Bioconcentration Factor *
พืชทะเล	1,000
สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเล	250,000
ปลาทะเล	3,000
พืชน้ำจืด	1,000
สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในน้ำจืด	4,000
ปลาน้ำจืด	3,000

*Bioconcentration Factor อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของ Cd ในสิ่งมีชีวิต (น้ำหนักเปียก) ต่อความเข้มข้นของ Cd ในน้ำ

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2541)

ตารางที่ 2 ปริมาณของแคดเมียมที่ตรวจพบในแหล่งน้ำของประเทศไทยระหว่างปี 2526-2530

แม่น้ำ	ปริมาณ Cd $\mu\text{g}/\text{m}^3$		
	ปี พ.ศ.	ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด	ค่าเฉลี่ย
เจ้าพระยา	2526	<0.50-0.80	0.6**
	2527	<0.10-10.16	1.19**
บางประกง	2526	0.50-2.40	0.75**
	2527	0.10-6.50	1.81**
	2528	0.10-2.50	0.73**
	2529	N.D.-4.31	0.82**
	2530	N.D.-2.50	0.57**
แม่กลอง	2527	<0.10-3.82	1.22**
	2528	<0.10-4.50	0.55**
ปราจีนบุรี	2526	<0.50-0.80	0.55**
	2527	<0.10-0.45	0.21**
	2528	<0.10-0.92	0.19**
	2529	0.13-0.77	0.45**
นครนายก	2526	<0.50-2.00	0.64**
	2527	0.10-3.14	1.12**
	2528	0.10-0.40	0.21**
	2529	N.D.-0.43	0.24**
ปิง	2526	0.001-0.002	-
	2527	0.002-0.004	0.0026
	2528	<0.002-0.004	0.0024
	2529	<0.002-0.002	0.002
	2530	<0.001-0.01	0.0026

หมายเหตุ N.D.= non detectable

** Cd เกินค่ามาตรฐานน้ำผิวดิน $0.05 \mu\text{g}/\text{L}$ (หรือ $2.1 \times 10^{-10} \text{ M}$) ในน้ำที่มีความกระด้างเกินกว่า $100 \text{ mg}/\text{L}$ (หรือ $0.9 \times 10^{-3} \text{ M}$) (CaCO_3)

ที่มา: ดัดแปลงมาจากกรมควบคุมมลพิษ (2541)

สำหรับการปนเปื้อนในน้ำนั้นก็ได้กำหนดค่ามาตรฐานในน้ำดื่มของประเทศไทยได้กำหนดให้มี Cd ไม่เกิน $0.01 \text{ mg}/\text{L}$ (หรือ $4.3 \times 10^{-8} \text{ M}$) (กรมควบคุมมลพิษ, 2550) ปริมาณ Cd ใน

บ่อน้ำดื่มที่แม่น้ำที่มีการปนเปื้อนของ Cd ในแหล่งน้ำที่ใช้เพื่อการอุปโภคและบริโภคนั้นมีปริมาณ Cd ต่ำมาก ค่าสูงสุดที่ตรวจพบในแหล่งน้ำ 0.18 $\mu\text{g/L}$ (หรือ 7.8×10^{-10} M) และยังมีตรวจวัดคุณภาพในแม่น้ำสายหลักและสายอื่นๆของประเทศไทยพบว่าปริมาณแคดเมียมที่ปนเปื้อนในระดับต่างๆกันซึ่งแสดงในตารางที่ 2

1. ความเป็นพิษของแคดเมียม

เป็นที่ทราบกันดีว่าผู้ที่ได้รับ Cd ในปริมาณมากจะทำให้เกิดเป็นโรคอิตะ-อิตะที่ทำให้กระดูกและไตพิการ ความดันโลหิตสูง เช่นที่เกิดกับชาวญี่ปุ่นที่เมืองฟูซุ ในช่วงก่อนและระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 2 ซึ่งเรียกโรคนี้อันว่า อิตะ-อิตะ หรือ เอช เอช (ouch ouch) ชื่อโรคมาจากเสียงร้องอย่างเจ็บปวดในภาษาญี่ปุ่นและส่วนมากโรคอิตะ-อิตะ มักจะเกิดในเพศหญิงมากกว่า โดยเฉพาะในหญิงมีครรภ์ ในระยะแรกจะมีอาการปวดบริเวณสะโพก แขนและขา ในระยะที่สองบริเวณพื้นที่ติดกับเหงือกจะมีวงแหวนสีเหลืองซึ่งเรียกว่า “วงแหวนแคดเมียม” ในระยะที่สามกระดูกทุกข้อในร่างกายจะเริ่มมีอาการปวดร้าวทำให้กระดูกมีรูปร่างผิดปกติ ผู้ป่วยจะเดินคล้ายกับเป็ด ในระยะที่สี่ผู้ป่วยจะมีอาการปวดอย่างรุนแรงจนไม่สามารถเดินได้และในระยะสุดท้ายเป็นระยะที่รุนแรงที่สุดผู้ป่วยจะมีน้ำหนักลด กินไม่ได้ นอนไม่หลับ เบื่ออาหาร อ่อนเพลีย หดแรงแและจะเสียชีวิตในที่สุด (ไมตรี, 2531) ซึ่งแสดงให้เห็น Cd มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นมนุษย์ พืช สัตว์หรือแม้แต่สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กก็จะมีผลต่อส่วนต่างๆ ทำให้ระบบการทำงานของกิจกรรมในการเติบโตผิดปกติ ในสิ่งแวดล้อมส่วนใหญ่จะปรากฏการปนเปื้อนของแคดเมียมในอาหาร อาหารที่นำบริโภคเป็นแหล่งที่มีการปนเปื้อนแคดเมียม อาหารทั่วไปมีปริมาณแคดเมียมน้อยกว่า 0.05 mg/kg (หรือ 2.1×10^{-7} M) ในส่วนของไตสัตว์บก เช่น วัว ควาย ไก่ และ หมู (พูลทรัพย์, 2548) ส่วนมากแสดงอาการในมนุษย์และสัตว์ เพราะพืชสามารถสะสมโลหะได้ในอัตราที่สูง อาหารจำพวกผักที่ใช้ใบรับประทาน เมล็ด และธัญพืชจะพบว่ามีปริมาณแคดเมียมที่ค่อนข้างสูง (ตารางที่ 3 และตารางที่ 4)

2. ระดับของแคดเมียมที่ทำให้เป็นอันตราย

เมื่อร่างกายคนเราได้รับ Cd ปริมาณมากกว่า 300 mg อาจจะทำให้ตายได้ Cd แม้เพียงปริมาณ 10 มิลลิกรัมจะทำให้เกิดอาการ Cd เป็นพิษอย่างชัดเจน ส่วนในอากาศปริมาณฝุ่นหรือควันของ Cd ต้องไม่เกิน 0.05 มิลลิกรัม/ลูกบาศก์เมตร (สถาบันอาหาร, 2547) ค่ามาตรฐานของน้ำผิวดินยอมให้มี Cd ได้ไม่เกิน 0.005 mg/L (หรือ 2.17×10^{-8} M) (กรมควบคุมมลพิษ, 2541)

ตารางที่ 3 ปริมาณแคดเมียมที่มีการปนเปื้อนในอาหาร

ชนิดของอาหาร	ปริมาณของ Cd ($\mu\text{g/g}$ ของน้ำหนักสด)
ผลิตภัณฑ์จากนม	0.01
นม	0.0015-0.004
แป้งสาลี	0.07
ผักใบเขียว	0.14
มันฝรั่ง	0.08
ผลไม้และผลไม้อื่น ๆ	0.07
น้ำตาล และ adjuncts	0.04
เนื้อ ปลา และสัตว์ปีก	0.03
มะเขือเทศ	0.00
เมล็ด และ ผลิตภัณฑ์ธัญพืช	0.06

ที่มา: Yu (2001)

ตารางที่ 4 ปริมาณโลหะในพืช (ppm /ที่วิเคราะห์จากน้ำหนักแห้งของพืช)

ชนิดพืช	Cu	Cd	Pb	Zn	Hg	As
ข้าว	2.8	0.01-0.11	0.19	7-21	-	110-200
ข้าวสาลี	1.3-5.5	0.01-0.26	0.4-1.0	22-37	4-33	3-10
ข้าวบาร์เลย์	1.8-9.2	0.01-0.04	0.1-1.5	20-30	0.2-82	3-18
กะหล่ำปลี	2.9-4.0	0.05	1.7-2.3	24-31	6.5	20-50
หอมหัวใหญ่	4.0-6.0	0.08	1.1-2	22-32	-	50-200
ผักกาดหอม	-	0.12-0.66	0.7-3.6	-	8.3	20-250
มะเขือเทศ	6.0-8.8	0.03-0.23	1-3	17-26	3.1-34	9-120

ที่มา : ศุภมาส (2540)

การศึกษาอิทธิพลของแคดเมียม

จากการนำ Cd มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆทำให้มีการปนเปื้อนในน้ำ ดิน และอากาศ ซึ่งสารมลพิษของ Cd ก็จะส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่ได้รับโดยการกิน สัมผัส และการดูด

ซึบ ในการทดสอบกับพืช รากจะเป็นตัวดูดซึบน้ำและแร่ธาตุอาหารเข้าสู่ส่วนต่างๆเพื่อใช้ในการเติบโต ซึ่งมีรายงานเกี่ยวกับความเป็นพิษของ Cd ที่ส่งผลต่อการเติบโตของพืช

1. การศึกษาอิทธิพลของแคดเมียมที่มีผลต่อพืช

Cd มีผลต่อการเติบโตของพืช เช่น ทั้งในแง่กระตุ้นให้เติบโต การยับยั้งการงอกของเมล็ด การยับยั้งความยาวของรากและความยาวของหน่อ ตลอดจนการสะสม Cd ในส่วนต่างๆของพืช และการถ่ายทอดต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ตามลำดับห่วงโซ่อาหาร ตัวอย่างการศึกษาอิทธิพลของ Cd ที่มีผลต่อพืช เช่น

Chugh and Sawhney (1996) ศึกษาการเติบโตของต้นอ่อนของเมล็ดถั่วลันเตาที่กำลังงอก (*Pisum sativum* cv. Bonneville) พบว่าถูกยับยั้งอย่างมีนัยสำคัญโดย Cd ที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 0.25 mM (หรือ 2.5×10^{-4} M) และ radicle จะได้รับผลกระทบมากกว่า plumule นอกจากนี้การทำงานของ amylolytic กับการทำงานของ α และ β -amylases จะลดน้อยลงอย่างต่อเนื่องเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นโลหะในอาหาร ในขณะที่การทำงานของ α -amylases ถูกยับยั้งตลอดแต่การทำงานของ β -amylases จะกลับคืนได้เองในเวลาต่อมา อัตราการหายใจของเมล็ด จะถูกยับยั้งอย่างรวดเร็วด้วยเช่นกัน และเกือบจะถูกระงับโดยสมบูรณ์เมื่อถูกทดสอบกับ Cd ตั้งแต่ 1 mM (หรือ 1×10^{-3} M) ขึ้นไป

Panda *et al.* (1997) ศึกษาการชักนำความผิดปกติทางพันธุกรรม และการเติบโตของราก *Allium cepa* เมื่อกระตุ้นด้วยแคดเมียมในสภาวะที่มีสารกำจัดแมลงที่แตกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ maleic hydrazide (MH) และ methyl mercuric chloride (MMCl) การทดลองทำโดยทดสอบรากด้วย CdSO_4 ความเข้มข้น 4×10^{-7} หรือ 4×10^{-6} M เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกระตุ้นด้วย MH ที่ความเข้มข้น 5×10^{-3} M หรือ MMCl ที่ความเข้มข้น 1.26×10^{-6} M เป็นเวลาดังแต่ 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 และ 48 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้ฟื้นตัวเป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางเซลล์วิทยาเพื่อวัดความผิดปกติทางพันธุกรรมจากเซลล์เนื้อเยื่อเจริญปลายราก พบว่าการเติม Cd จะทำให้โปรตีนบางชนิดได้แก่ cycloheximide (CH) และ buthionine sulfoximine (BSO) ถูกยับยั้งการทำงาน ทำให้ไม่ตอบสนองกับสารกำจัดแมลง MH และ MMCl โดยเวลาที่ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานที่ดีที่สุดคือเป็น 48 ชั่วโมง และไม่มี ความแตกต่างกันสำหรับ Cd ทั้งสองความเข้มข้น

Jiang *et al.* (2001) ศึกษาอิทธิพลของ CdCl_2 ต่อการเติบโตของราก หัวและหน่อของกระเทียม (*Allium sativum* L.) โดยใช้ Cd^{2+} ความเข้มข้น 10^{-2} - 10^{-6} M พบว่า Cd ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ (10^{-5} - 10^{-6} M) จะกระตุ้นความยาวรากของเมล็ดที่กำลังงอก ในระหว่างการทดสอบทั้งหมดอย่างมี

นัยสำคัญ ($P < 0.05$) ส่วน Cd ที่ความเข้มข้น 10^{-2} - 10^{-3} M จะทำให้การเติบโตของต้นกระเทียมลดลง ($P < 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อการเกิด chlorosis และยังพบว่าในรากของกระเทียมมีการสะสม Cd เพิ่มขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นของสารละลาย Cd^{2+} เพิ่มขึ้นด้วย โดยในรากของกระเทียมที่ทดสอบกับ Cd ความเข้มข้น 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} และ 10^{-6} M มีการสะสม Cd ประมาณ 1826, 114, 59, 24 และ 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตามลำดับ อย่างไรก็ตามกระเทียมสามารถเคลื่อนย้าย Cd เพียงเล็กน้อยไปยังหัวและหน่อ และในส่วนของเนื้อเยื่อจะมี Cd อยู่ในระดับต่ำ

Ramos *et al.*(2002) ศึกษาการได้รับ Cd และการแพร่กระจายของ subcellular ใน *Lactuca* sp. ในการทดลองแบบ in vivo และแบบ in vitro เพื่อศึกษาผลของ Cd ต่อการได้รับ Mn และการแพร่กระจาย subcellular ในผักกาดหอมที่เลี้ยงใน hydroponics กับสารละลายอาหารที่ประกอบด้วย Cd 0.1 และ 1.0 mg/L (4.3×10^{-7} และ 4.3×10^{-6} M) ในเรือนกระจก (ในการทดลอง vivo) เช่นเดียวกับใบผักกาดหอมที่ได้รับ Cd โดยตรงจากการทดสอบแบบ in vitro (Cd 0.5 mg/L และ 1.0 mg/L หรือ 2.1×10^{-6} และ 4.3×10^{-6} M) ทำให้มีการดูดซับและส่งผ่านเพื่อนำไปใช้ในการเติบโตในส่วนอื่นๆ ของต้นพืช

Drazic and Mihailonic (2005) ศึกษาการทดสอบ Cd 6 mg/kg (หรือ 2.6×10^{-5} M) กับเมล็ดถั่วเหลืองที่กำลังงอกในสภาพแวดล้อมที่มีหรือไม่มี Salicylic acid (SA) ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-5} และ 10^{-4} M พบว่า Cd เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้เกิดการเจริญของรากและใบเลี้ยง ส่วนในการทดสอบกับ Cd กับ SA ความเข้มข้น 10^{-6} และ 10^{-5} M พบว่าทำให้รากมีการเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และการทดสอบ Cd กับ SA ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-5} และ 10^{-4} M ทำให้จำนวน chlorophyll ในใบลดลง จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่า SA เมื่อนำมาใช้กับพืชจะทำให้พืชมีความต้านทานต่อการเกิดโรค และพัฒนากระบวนการเติบโตของพืช และยังมีรายงานอีกว่า SA สามารถลดความเป็นพิษของโลหะหนัก

Meie and Zhou (2005) ศึกษาพิษของ chlorimuron-ethyl ที่เป็นมลพิษทางการเกษตรต่ออัตราการงอกและหน่อและความยาวรากของเมล็ดข้าวสาลี (*Triticum aestivum*) และเมล็ดข้าวสาลี โดยทดสอบกับ chlorimuron-ethyl ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีการเติมหรือไม่เติม Cd^{2+} และ Cu^{2+} ลงไป พบว่าเมื่อเติม Cd^{2+} ความเข้มข้น 60 mg/L (หรือ 2.8×10^{-5} M) หรือ Cu^{2+} ที่ความเข้มข้น 2 mg/L (หรือ 3.1×10^{-6} M) จะมีผลต่อความยาวหน่อและความยาวรากลดลงประมาณ 20% อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ Cd^{2+} เป็น 240 mg/L (หรือ 1.0×10^{-5} M) หรือ Cu^{2+} เป็น 10 mg/L (หรือ 1.5×10^{-4} M) จะยับยั้งของความยาวรากประมาณ 70% อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยความไวต่อการตอบสนองความเป็นพิษของการเติบโต

ส่วนต่างๆ ของข้าวสาลีที่มีต่อสารมลพิษทั้งสามชนิดเป็นไปในทิศทางเดียวกัน เรียงลำดับได้ดังนี้ ความยาวราก > ความยาวหน่อ > อัตราการงอก

Zheljazkov *et al.*(2005) ศึกษาการประเมินผลของ Cd, Pb และ Cu กับกลุ่มพืช essential oil (สระระแห่น โหระพาและในผักชีฝรั่ง) ในพื้นที่ที่มีการเจือปนของโลหะ โดยพิจารณาจากการสะสมของ Cd, Pb และ Cu ในส่วนต่างๆ ของพืช จากการทดสอบพบว่า Cu ความเข้มข้น 60 (หรือ 9.4×10^{-4} M) และ 150 mg/L (2.3×10^{-3} M) ทำให้ผลผลิตและความสูงของผักชีฝรั่งลดลง และยังทำให้เกิดอาการ phytotoxicity ซึ่งส่งผลต่อการเติบโตลดลง ในสระระแห่นและโหระพาระดับความเข้มข้นของ Cd มีผลต่อการเติบโตปานกลาง จากการศึกษาพบว่า Cd สามารถเคลื่อนย้ายจากรากไปที่หน่อของพืชทั้งสามชนิดได้น้อยลง ซึ่งทำให้มีการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของ essential oils ในโหระพาและผักชีฝรั่งได้เพียงเล็กน้อย และ Cd ยังมีผลทำให้น้ำมันของสระระแห่น มีปริมาณ menthol ลดลง และจากการทดสอบปริมาณน้ำมันในโหระพากับ Cd + Pb + Cu พบว่าจะมีปริมาณน้ำมันต่ำกว่าในกลุ่มควบคุม ส่วนการทดสอบ Cu ความเข้มข้น 150 mg/L (2.3×10^{-3} M) กับผักชีฝรั่งพบว่าปริมาณน้ำมันลดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนในน้ำมันของพืชทั้งสามชนิดไม่ตรวจพบปริมาณของ Cd, Cu หรือ Pb ซึ่งแสดงให้เห็นว่า สระระแห่น โหระพาและผักชีฝรั่งสามารถเติบโตในดินที่อุดมไปด้วย Cd, Pb และ Cu ที่เจือปนอยู่ได้โดยที่ไม่เสี่ยงต่อการลำเลียงโลหะเข้าไปยังน้ำมันในพืชซึ่งอาจจะมีผลเสียกับการตลาดได้ จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการใช้ พืชหอมระเหยเป็นกลุ่มพืชทางเลือกสำหรับดินที่มีการปนเปื้อน Cd, Pb และ Cu ได้เป็นอย่างดี

2. การศึกษาผลกระทบของแคดเมียมต่อสารพันธุกรรมในพืช

การศึกษาในระยะต่อมาพบว่า Cd มีผลกระทบต่อการทำงานของ DNA สามารถชักนำให้เกิดการทำลาย DNA และยังส่งผลต่อสารพันธุกรรมในพืชซึ่งทำให้ค่า mitotic index ลดลง และยังพบว่าทำให้เกิดความผิดปกติโครโมโซมเช่น C-mitotic, anaphase bridge, breaks, stickiness, lagging, vagrant chromosome และ micronuclei ดังการศึกษาดังต่อไปนี้

Zhang and Yang (1994) ศึกษาผลของ Cd ที่ความเข้มข้น 0.5-20 ppm หรือ 2.1×10^{-6} - 8.7×10^{-4} M ต่อการเจริญของราก ต่อการแบ่งเซลล์และรูปร่างของโครโมโซมของ *Hordeum vulgare* พบว่าความเข้มข้นของ Cd ที่เพิ่มขึ้นทำให้อัตราการเจริญของรากและค่า mitotic index ลดลง แสดงให้เห็นว่า Cd ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันเป็นสาเหตุทำให้เกิด mitotic aberration

ประกอบด้วย c-mitoses, anaphase bridges, break, stickiness, lagging และ vagrant chromosome และ micronuclei โดยความเป็นพิษจะมีความรุนแรงเมื่อความเข้มข้นของ Cd เพิ่มขึ้นและระยะเวลาในการทดสอบนานขึ้น

Rank and Nielsen (1998) ทดสอบความเป็นพิษของน้ำเสียของโรงงานสามแห่งในเขตเทศบาล Dasnish ที่มีต่อสารพันธุกรรมของ *Allium cepa* โดยเก็บตัวอย่างน้ำในช่วงฤดูหนาวเป็นเวลาสามครั้งจากแหล่งน้ำทิ้งที่มีความแตกต่างกันทั้งขนาด ชนิดและปริมาณน้ำ เมื่อพิจารณาค่า EC_{30} และ EC_{50} ที่แสดงถึงความเป็นพิษนั้น พบว่ามีความสัมพันธ์ไปในทางบวกต่อความหนาแน่นของโรงงานอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตามเมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม พบว่าการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase-telophase ของ *A. cepa* นี้กลับไปทางตรงกันข้าม โดยน้ำทิ้งเพียงสองตัวอย่างจากโรงงานขนาดเล็กกับอุตสาหกรรมที่ไม่หนาแน่นที่สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการพิจารณาเพียงขนาดและความหนาแน่นของอุตสาหกรรมจึงอาจไม่เพียงพอในการประเมินแนวโน้มในการเกิดพิษต่อสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะความเป็นพิษที่เกิดขึ้นในในระดับเซลล์ ชนิดของน้ำทิ้งที่แตกต่างกันจะต้องนำมาคำนึงถึงด้วยเสมอ

Zhang and Xiao. (1998) ศึกษาอิทธิพลในทางตรงกันข้ามกันของ Ca^{2+} , Zn^{2+} และ Se^{4+} กับ Cd^{2+} พบว่า Cd ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 10^{-3} - 10^{-5} M สามารถชักนำให้เกิดความเป็นพิษในเซลล์รากของ *Hordeum vulgare* โดยชักนำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมและ micronuclei แต่ในเมื่อมีการเติม Ca^{2+} , Zn^{2+} และ Se^{4+} ที่ความเข้มข้น 10^{-2} - 10^{-6} M พร้อมกับ Cd^{2+} หลังจากทดสอบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำให้ความถี่ในการเกิดความผิดปกติของโครโมโซมและ micronuclei ลดลง นอกจากนี้ในการทดสอบแยกโลหะแต่ละชนิดกับ Cd พบว่าโลหะแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งพิษของ Cd ได้แตกต่างกัน โดยเรียงลำดับความสามารถในการลดพิษ Cd ได้ดังนี้ $Ca^{2+} > Se^{4+} > Zn^{2+}$ โดยความเข้มข้นของโลหะที่มากจะยิ่งเพิ่มประสิทธิภาพในการลดพิษของ Cd ได้ดีมากยิ่งขึ้น

Marcano *et al.*(2002) ศึกษาผลของ Cd ต่อ nucleolar ultrastructure โดยเตรียมจากเซลล์เนื้อเยื่อของ *Allium cepa* L. ที่เติบโตที่อุณหภูมิ 25°C ทดสอบกับ $CdCl_2$ ความเข้มข้น 10 ppm (4.3×10^{-5} M) และย้อมสีด้วยเทคนิค silver staining เพื่อทำการวิเคราะห์ ultrastructure โดยการใช้ electron microscopy และสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ nucleoli ที่ทดสอบกับ Cd เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จะเห็น nucleolar ที่แยกตัวออกมาในระยะ interphase ลดลงซึ่งอาจจะเป็นเพราะผลของ Cd ต่อการสังเคราะห์ของ ribosomal RN ส่วนในเซลล์ที่ได้รับ Cd^{2+} เป็นเวลา 8 ชั่วโมงจะทำให้มีการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ G1 ทำให้ chromatin ในกลุ่ม prenucleolus กระจุกกระจายอยู่ภายในนิวเคลียส ในขณะที่เดียวกันก็จะเกิด interchromatin granules เป็นจำนวนมาก การเปลี่ยนแปลงใน

กระบวนการนี้เกิดจาก Cd^{2+} และเกิดขึ้นระหว่างการยับยั้งการสังเคราะห์ RNA fibrillar ที่มีลักษณะเป็นแบบ morphologic ซึ่งจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าความเป็นพิษของ Cd^{2+} ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง biosynthesis ของ preribosomal RNA ที่แสดงออกมา

El-Shahaby *et al.*(2003) ศึกษาการประเมินค่าความเป็นพิษของน้ำทิ้งโดยใช้ *Allium cepa* จากน้ำทิ้งอุตสาหกรรมจาก 4 แหล่งคือ Shawa, Meet El akrad, Telbana และ Belgay ทำการศึกษาโดยวิเคราะห์การยับยั้งการแบ่งเซลล์ในเนื้อเยื่อเจริญของ *Allium cepa* ความผิดปกติของโครโมโซมใน mitotic cell และการวิเคราะห์ micronucleus (MNC) ของเซลล์ในระยะ interphase ผลการทดลองพบว่าน้ำทิ้งทั้ง 4 ตัวอย่าง ต่างก่อให้เกิดการกลายพันธุ์สูงและทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมใน mitotic cell และ MNC (ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ, $p > 0.05$) โดยจากการศึกษานี้ใช้โลหะ (Pb, Zn, Co, Cd, Cu) เป็นตัวกำหนด

Yi and Meng. (2003) ศึกษาความเป็นพิษของ Sodium bisulfite ต่อ sodium sulfite โดยใช้ *Allium sativum* และ *Vicia faba* เป็นพืชที่นำมาทดสอบความเป็นพิษโดยใช้ความเข้มข้นของ Sodium bisulfite ต่อ Sodium sulfite ในอัตราส่วน 1 : 3 ที่มีความเข้มข้น 1×10^{-4} ถึง 2×10^{-3} M เป็นเวลา 24 h พบว่าเกิด anaphase aberration และ micronuclei ในรากของ *Vicia faba* และ *Allium sativum* สามารถชักนำให้เกิด micronuclei จากการศึกษานี้สามารถนำพืชทั้งสองชนิดนำไปใช้เป็น cytogenetic bioassays

Gichner *et al.* (2004) ศึกษาความเป็นพิษของ Cd^{2+} ในรูปของ $CdCl_2$ กับต้นยาสูบ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดการทำลาย DNA อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งวัดโดยการตรวจสอบ celluilar comet ในการตรวจสอบการทำลาย DNA โดย Cd^{2+} สามารถเคลื่อนย้าย catalase-deficient ในต้นยาสูบ (CATLAS) สูงกว่าในรากของยาสูบ wild-type (SR1) ในการทดลองด้วยวิธี ethyl methanesulphonate พบว่า Cd^{2+} ไม่สามารถชักนำให้เกิดการทำลาย DNA nuclei ในใบ และ somatic mutations, homologous recombination ในการวิเคราะห์ด้วยวิธี GUS generactivation assay ด้วยกล้อง spectrometry แสดงให้เห็นว่ารากมีการสะสม Cd^{2+} เกือบจะมากกว่า 50 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และพบว่า Cd^{2+} ไม่มีความเป็นพิษในส่วนของใบยาสูบ

Sang and Li. (2004) ศึกษาความเป็นพิษของน้ำชะกับปลายราก *Vicia faba* โดยเก็บรวบรวมน้ำชะในฤดูกาลต่าง ๆ ในพื้นที่ชนบทพบว่าทำให้ลดการเกิด mitotic index และเป็นสาเหตุทำให้เกิด micronucleus เพิ่มขึ้นและเกิด anaphase aberration ซึ่งการเกิดความผิดปกติเหล่านี้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและชนิดของสารเคมี น้ำชะในแต่ละฤดูกาลจะมีความแตกต่างของความเป็นพิษที่เกิดในเซลล์พืชและในสิ่งแวดล้อมอาจจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งมีชีวิตในน้ำ

Ivanova *et al.* (2005) ได้ทำการสอบความเป็นพิษของโลหะหนักและการปนเปื้อน Cyanide ในแม่น้ำในแถบ Southwest Bulgaria โดยใช้ *Allium cepa* เป็นพืชทดสอบ พบว่ามีการแบ่งเซลล์ลดลงและเกิดการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติ เช่น micronuclei, anaphase และ telophase bridge และ fragments, lagging chromosome และ C-mitotic ผลจากการวิเคราะห์ความเป็นพิษพบว่า *Allium cepa* มีความเหมาะสมสำหรับเป็น biomonitoring ของโลหะหนัก และการปนเปื้อน cyanide ในแหล่งน้ำ

Fusconi *et al.* (2006) ศึกษาผลของ Cd ต่อการเจริญของ primary root ต่อการแบ่งเซลล์บริเวณปลายราก การเกิดความผิดปกติของการแบ่งเซลล์ และการเกิด nucleus ploidy โดยใช้รากของ *Pisum sativum* L. cv. พบว่า Cd เป็นสาเหตุทำให้ความยาวรากลดลง และเมื่อทดสอบกับ Cd 250 μM (2.5×10^{-4} M) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะทำการเติบโตในพืชตระกูลถั่วเกือบถูกยับยั้งโดยสมบูรณ์ ในพืชตระกูลถั่วที่ทดสอบกับ Cd 2.5 และ 25 μM (2.5×10^{-3} และ 2.5×10^{-2} M) พบว่า Cd ความเข้มข้นดังกล่าวจะยับยั้งการแบ่งเซลล์ ในขณะที่ Cd ความเข้มข้น 250 μM (0.25 M) เป็นสาเหตุทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase และทำให้โครโมโซมมีลักษณะบวมพอง จากการคาดคะเนความสัมพันธ์ระหว่างความยาวรากและการแบ่งเซลล์พบว่ามีความยาวรากแตกต่างกัน ส่วน Cd ที่ความเข้มข้นต่ำ (0.25, 0.5 และ 1 μM หรือ 2.5×10^{-5} , 5×10^{-4} และ 1×10^{-3} M) จะไม่ยับยั้งการเติบโตของรากแต่จะทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซม เช่น sticky metaphase และ anaphase bridge ซึ่งความถี่ในการเกิดความผิดปกติจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ Cd ที่เพิ่มขึ้นด้วย ยิ่งไปกว่านั้น Cd ยังชักนำให้เกิดการเพิ่มเปอร์เซ็นต์ 4C nuclei และในขณะเดียวกันก็ลดปริมาณ 2C nuclei ด้วย ซึ่งเป็นกลไกหนึ่ง que แสดงให้เห็นว่านิเวศวิทยาส่งผลกระทบต่อ Cd อันส่งผลให้เกิดการทำงานของเซลล์เนื้อเยื่อและ nuclear ploidy ที่แตกต่างกัน

ผลจากการศึกษาที่กล่าวมาทั้งหมดข้างต้นแสดงให้เห็นว่า Cd สามารถเข้าไปสะสมที่ปลายรากและส่งผลกระทบต่อการทำงานของสารพันธุกรรมภายในเซลล์บริเวณปลายรากที่มีการแบ่งเซลล์อยู่ตลอดเวลาจึงทำให้การทำงานของ DNA ผิดปกติและเกิดการแบ่งเซลล์ในระยะต่างๆ ผิดปกติไปด้วย เช่น ทำให้ micronuclei, chromosome bridge, disturb chromosome, fragment chromosome และ laggiard chromosome เป็นต้น ความผิดปกติที่เกิดขึ้นนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณและระยะเวลาที่ได้รับ และความไวต่อการตอบสนองของพืชในแต่ละชนิด นอกจากนี้การปรากฏตัวของสารอื่นๆ ในระบบอาจมีผลทำให้พิษของ Cd เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ ดังนั้นการศึกษาเฉพาะกรณีจึงมีความสำคัญในการช่วยอธิบาย Cd bioavailability ในสิ่งแวดล้อมด้วย

สารอินทรีย์ในแหล่งน้ำ

สารอินทรีย์สามารถพบได้ทั่วไปทั้งในน้ำและในดิน เป็นสารอินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติ และที่ผ่านการย่อยสลายโดยสิ่งมีชีวิตทำให้มีองค์ประกอบที่มีขนาดเล็กลง องค์ประกอบนี้คือ สารอินทรีย์ที่แทรกตัวอยู่ตามดิน และสามารถที่จะละลายปะปนอยู่ในแหล่งน้ำ จึงทำให้น้ำมีสี น้ำตาลเหลืองสามารถพบได้ตามหนอง บึง ทะเลสาบ และแม่น้ำต่างๆ

ตามธรรมชาติประเภทของสารอินทรีย์มีมากมายหลายชนิด วิธีที่ใช้ในการแยกประเภทของสารอินทรีย์ คือ การแบ่งตามวัตถุประสงค์กำเนิดของสารอินทรีย์จะแบ่งได้เป็น 2 แบบคือ

ก. Aquogenic เป็นสารอินทรีย์ตามธรรมชาติที่มีต้นกำเนิดมาจากการย่อยสลายของสิ่งมีชีวิตในน้ำ พีชชั้นสูง สาหร่าย แบคทีเรียโดย aquogenic materials จะเป็นองค์ประกอบหลักในทะเลสาบและมหาสมุทร

ข. Pedogenic เป็นสารอินทรีย์ตามธรรมชาติที่มีต้นกำเนิดจากพืชบนบกและสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก รวมถึงวัตถุต่างๆที่ถูกชะจากดินจนลงสู่แหล่งน้ำ ได้แก่ ทะเลสาบ แม่น้ำ หรืออ่างเก็บน้ำจะได้รับสารอินทรีย์จากแหล่งน้ำนั้นเป็นหลัก

สารอินทรีย์ที่พบส่วนใหญ่ได้จากสารอินทรีย์ที่ได้จากการย่อยสลายของสิ่งมีชีวิต (humic substance; HS) โดยพบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยเพียง 60-80 เปอร์เซ็นต์ของสารอินทรีย์ที่แขวนลอยและที่ละลายอยู่ในน้ำจะเป็น HS (Reuter and Perdue, 1976) รวมอยู่กับสารอินทรีย์ที่ไม่ใช่ HS ซึ่งได้มาจากองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตที่ยังไม่ได้ย่อยสลาย (nonhumic substances) สารอินทรีย์เหล่านี้สามารถเคลื่อนย้ายจากดินไปสู่แหล่งน้ำโดยการชะล้างของน้ำฝนซึ่งไหลบ่าหรือซึมผ่านชั้นดินนำอนุภาคของสารอินทรีย์ที่ละลายหรือแขวนลอยลงสู่แหล่งน้ำ ซึ่งแม้มี HS เพียง 10 mg/L (หรือ 1×10^{-6} M) ก็สามารถทำให้รูปแบบของสารประกอบเชิงซ้อนในแหล่งน้ำมีความสำคัญได้ (Reuter and Perdue, 1976)

ตัวอย่างการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนอินทรีย์ที่ละลายน้ำกับโลหะที่ประกอบด้วย Cd, Ni และ Zn ที่มาจากน้ำชะขยะใต้ดิน (leachate-polluted groundwater) 2 แหล่งที่มีปริมาณ dissolved organic carbon (DOC) แตกต่างกัน มี pH ที่ศึกษาอยู่ในช่วง 5-8 น้ำชะขยะใต้ดินตัวอย่างที่ 1 มีค่า DOC เท่ากับ 187 mg C/L (หรือ 1.5×10^{-2} M) มีค่าเฉลี่ย $\log K_c \pm SD$ ของ Cd ที่ค่า pH 5, 6, 7 และ 8 เป็นดังนี้ 4.28 ± 0.033 , 4.40 ± 0.074 , 4.75 ± 0.036 และ 5.10 ± 0.053 และน้ำชะขยะใต้ดินตัวอย่างที่ 2 มีค่า DOC เท่ากับ 79 mg C/L (หรือ 6.5×10^{-3} M) ซึ่งมีค่าเฉลี่ย $\log K_c$ ของ Cd ที่ pH 6, 7 และ 8 เป็นดังนี้ 4.43 ± 0.066 , 4.58 ± 0.027 และ 4.78 ± 0.024 ตามลำดับโดยค่าที่ pH 5 ไม่แสดงผล (Christensen and Christensen, 2000)

1. ชนิดและองค์ประกอบของสารอินทรีย์

สารฮิวมิกสามารถแบ่งตามลักษณะการละลายในกรดอ่อน-เบสอ่อนได้เป็น 3 ชนิดคือ ฮิวมิน กรดฮิวมิก และกรดฟัลวิก

(1) ฮิวมิน (humic) ได้แก่ ของแข็งที่ตกตะกอนในขั้นตอนการสกัดกรดฮิวมิก ดังนั้นสมบัติของมันคือไม่สามารถสกัดได้ด้วยสารละลายต่างและกรดที่เจือจาง มีลักษณะเป็นสีดำซึ่งลักษณะโครงสร้างไม่แน่นอน

(2) กรดฮิวมิก (humic acid; HA) เป็นส่วนหนึ่งของสารฮิวมิกที่ได้จากการย่อยสลายซากพืชและซากสัตว์ HA สามารถละลายในสารละลายต่างเจือจาง และนำสารละลายต่างที่สกัดได้นั้นมาตกตะกอนด้วยกรดจะได้ตะกอนของ HA เมื่อนำเอา HA มาสกัดด้วยแอลกอฮอล์จะได้ส่วนที่ละลายคือกรดไฮมาโทเมลานิก (hymatomelanic acid) หรือนำเอาตะกอน HA มาละลายด้วยต่างแล้วเติมอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte) จะได้ตะกอนของ HA สีเทา ส่วนที่ไม่ตกตะกอนคือ HA สีน้ำตาล

(3) กรดฟัลวิก (fulvic acid; FA) เป็นส่วนที่ละลายจากขั้นตอนการสกัด HA ดังนั้นคุณสมบัติของมันจึงสามารถละลายได้ทั้งในกรดและในด่าง มีสีเหลืองอ่อนถึงสีเหลืองน้ำตาล (ทวิลักษณ์ และกฤตย์, 2549) โดย FA ที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ได้แก่ Suwannee River Fulvic Acid (SRFA) ซึ่งจะได้กล่าวรายละเอียดในเรื่องถัดไป

อย่างไรก็ดี HS นั้นเมื่อแยกองค์ประกอบและสมบัติการละลายในกรดอ่อนและเบสอ่อนนั้นมีความสำคัญต่อการจับกับโลหะมีอยู่สองกลุ่มคือ HA และ FA ซึ่งต่างมีความสามารถในการจับกับโลหะที่แตกต่างกัน โดยในการศึกษา HA และ FA ที่สกัดจากพีทของ Kipton *et al.*(1996) พบว่า HA และ FA โมเลกุลใหญ่ที่สกัดจากพีทที่ค่า pH 6.0, 9.0 และ 12.0 โดยใช้ 0.01 M หรือ 0.001 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ เมื่อตรวจสอบโดยวิธี gel permeation chromatography ถูกสกัดออกมาได้มากขึ้นเมื่อมีค่าความเป็นด่างมากขึ้น โมเลกุลใหญ่ๆ ที่ถูกสกัดออกมาเหล่านี้มีความเป็นกรดลดลงประมาณ $5.2-4.3 \text{ meq-COOHg}^{-1}$ ในการทดลองนี้พบว่า HA และ FA มีความสามารถไม่แตกต่างกันในการจับกับ Cu (II) อย่างไรก็ดีจากการตรวจสอบคุณสมบัติและความสามารถในการให้โปรตอนโดยพิจารณา binding site พบว่า FA และ HA มีความแตกต่างกันดังนี้

(1) FA มีความแข็งแรงของพันธะที่เกิดกับ Cu (II) น้อยกว่า HA

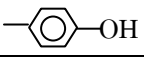
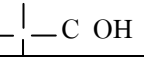
(2) ที่ pH มากกว่า 6 FA มีความสามารถในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนต่อโมล น้อยกว่า HA

(3) FA มีความเป็นกรดสูงกว่า HA ประมาณ $7.2 \text{ meq—COOH g}^{-1}$ ในขณะที่ HA มีอยู่ $4.7 \text{ meq—COOH g}^{-1}$

(4) FA มีสัดส่วนของ binding sites เป็น polyprotic ($n > 4$) น้อยกว่า HA

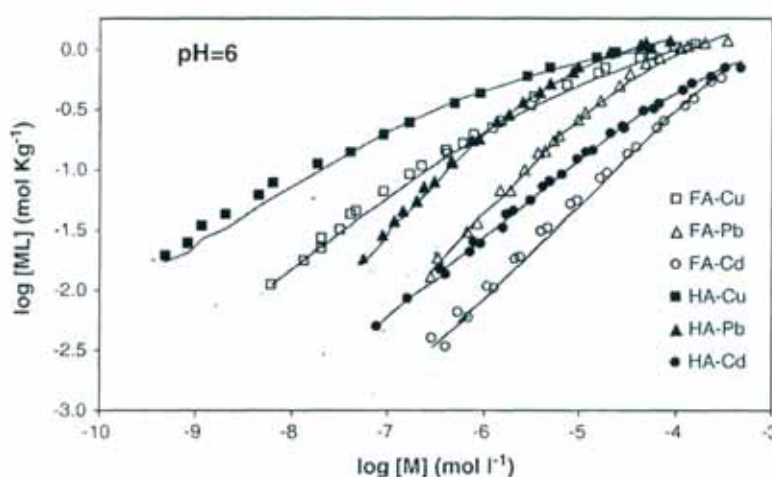
(5) FA มีสัดส่วนของ COOH group มากกว่า HA (42-58 %) ที่ $pK_a = 2$

สำหรับ HA และ FA มีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงโลหะในแหล่งน้ำ เพราะสามารถเกิดพันธะกับโลหะได้ โดยหมู่ฟังก์ชันที่อยู่ในโมเลกุลสารอินทรีย์จะทำปฏิกิริยากับโลหะ ส่วน FA นั้นมีความสำคัญมากในแหล่งน้ำ เนื่องจากมีหมู่ฟังก์ชันมากที่สุดสามารถเกิดพันธะกับโลหะได้ดี และละลายน้ำได้ดีกว่าสารอินทรีย์ชนิดอื่นๆ จึงทำให้แขวนลอยอยู่ในน้ำได้นาน และถูกพัดพาให้เคลื่อนที่ได้ไกล ส่วน HA มีความสำคัญต่อการขนส่งเนื่องจากมีขนาดโมเลกุลใหญ่ และมีปริมาณมาก ดังนั้นในการเกิดปฏิกิริยากับโลหะจึงไม่สามารถกำหนดลงไปได้ว่าเกิดปริมาณมากน้อยเพียงใด สามารถทราบได้เพียงแต่ว่าเกิดจากหมู่ฟังก์ชันใดเท่านั้น แสดงการเปรียบเทียบคุณสมบัติของ HA และ FA หมู่ฟังก์ชันบางอย่างของสารทั้งสองชนิดไว้ในตารางที่ 5 ตารางที่ 5 แสดงสมบัติบางประการและหมู่ functional group ที่เกี่ยวข้องของ HA และ FA

คุณสมบัติ	HA	FA
องค์ประกอบโดยน้ำหนัก (% by weight)		
C	50-60	40-50
H	4-6	4-6
O	30-35	44-50
N	2-4	<1-3
S	1-2	0-2
ละลายในกรดแก่ (pH)	ไม่ละลาย	ละลาย
น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง	ประมาณ 100-หลายล้าน	180-10,000
หมู่ functional group (ปริมาณออกซิเจน ในหมู่ functional group)		
คาร์บอกซิล -COOH	14-15	58-65
ฟีนอล 	10-38	9-19
แอลกอฮอล์ 	13-15	11-16
คาร์บอนิล -C=O	4-23	4-11
เมทอกซิล -O-CH ₃	1-5	1-2

ที่มา: นัทธีรา (2541) อ้างตาม Schnitzer and Khan (1972)

การศึกษาของ Gondar *et al* (2005) ทดสอบสารสกัด HA และ FA จากพีทกับโลหะสามชนิดคือ Cd, Pb และ Cu โดยการไตเตรทที่ pH 5.5 และ 6.0 และ 0.1 M KNO₃ พบว่าโลหะไอออนทั้งสามชนิดมีจำนวนไอออนบวกจับกับ HA มากกว่าที่จับกับ FA ในกรณีนี้ค่า k ของการเกิดปฏิกิริยาของโลหะกับ HA จะมีค่าสูงกว่า FA กับโลหะชนิดเดียวกันทุกคู่ โดยที่ลำดับความยากง่ายในการแลกเปลี่ยนโปรตอนของโลหะทั้งสามชนิดกับ HA และ FA เป็นดังนี้ $Cu^{2+} > Pb^{2+} > Cd^{2+}$ เมื่อนำค่าความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนโลหะ HA และ FA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มา plot กราฟพบว่า HA จะมีศักยภาพในการจับกับโลหะมากกว่า FA ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 เปรียบเทียบการจับกันของโลหะไอออนโดย FA และ HA ที่ pH 6, I=0.1 M
ที่มา: Gondar *et al.*, (2005)

สารอินทรีย์ที่ได้จากการผุพังตามธรรมชาติ เช่น HA และ FA นี้เมื่อมีต้นกำเนิดแตกต่างกันย่อมมีสมบัติแตกต่างกันออกไป Christopher *et al.* (2001) ได้นำข้อมูลการแลกเปลี่ยนโปรตอนของโลหะกับ HA และ FA รวม 26 ชนิด (FA = 11 ชนิด และ HA = 15 ชนิด) มาทดลองป้อนลงใน NICA-Donnan model โดยพิจารณาจากสมบัติของ HA และ FA พบว่าสารอินทรีย์ทั้งสองชนิดมีค่าเฉลี่ย K_1 และ K_2 ใกล้เคียงกันคือ FA มีค่า $K_1 = 2.34$ และ $K_2 = 8.6$ ส่วน HA มีค่า $K_1 = 2.93$ และ $K_2 = 8.0$ โดยค่า K ของ FA และ HA ที่ Christopher *et al.* (2001) ได้รายงานไว้แสดงในตารางที่ 6 และ 7 สำหรับการศึกษานี้ได้ทดลองใช้ FA ที่มีจำหน่ายอยู่ในท้องตลาดชื่อ Suwannee River Fulvic Acid (SRFA) มาใช้ซึ่งจากการศึกษาของ Christopher *et al.* (2001) ได้ระบุว่า SRFA มีค่า $K_1 = 3.24$ และ $K_2 = 8.60$ ซึ่งสอดคล้องกับ

Leenheer *et al* (1995) ที่ศึกษาสมบัติความเป็นกรดของ SRFA ที่ปรากฏมีค่าความเป็นกรดเนื่องจากหมู่ carboxyl ที่ $pK_a = 3.0$ หรือน้อยกว่า โดยมีโครงสร้างรอง 43 % ที่ประกอบไปด้วยหมู่ ketone acid และ aromatic carboxyl group และอีก 57 % เป็นพวกหมู่กรดแก่อื่น ๆ ได้แก่ aliphatic carboxyl group เมื่อ Leenheer *et al* (1995) ได้ทำการศึกษาโครงสร้าง polycarboxylic acid ที่สามารถทำให้ความเป็นกรดของ SRFA รุนแรงขึ้น พบว่าค่า pK_a เข้าใกล้ 2 จะเกิดขึ้นได้ในกรณีที่มีหมู่ α -ether และ α -ester อยู่ในโครงสร้างวงแหวนที่มีหมู่ฟังก์ชันอื่นอยู่ร่วมด้วยอีก 2-3 หมู่ ได้แก่ carboxyl, หมู่ ester, หมู่ ketone และหมู่ aromatic ในตำแหน่งด้านข้างของวงแหวน โครงสร้างดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่โครงสร้าง carboxylic นี้จะมีความสำคัญอย่างมากในการจับโลหะ

การศึกษาของ Saar and Weber (1980) ได้ทำการศึกษาสมบัติการดูดซับรังสี fluorescence ของ SRFA เปรียบเทียบกับ FA ที่สกัดจากดิน พบว่าการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ FA กับ Cu^{2+} จะทำให้การดูดซับรังสี fluorescence ลดลงอย่างมาก ซึ่งเมื่อ Larive *et al* (1996) ได้นำ SRFA มาทดสอบกับ Cd โดยใช้ ^{113}Cd วิเคราะห์สารประกอบที่เกิดขึ้นด้วย NMR spectroscopy พบว่าค่า complexation formation constant (K) ของ ^{113}Cd -FA ที่ pH มีค่า $5.4 \times 10^{-2} M$ ที่ค่า pH 6.4

จะเห็นได้ว่าสารฮิวมิกที่ประกอบไปด้วย HA และ FA มีบทบาทและความสำคัญในการจับกับโลหะในสิ่งแวดล้อมอย่างมาก โดยเฉพาะ FA ที่ได้นำมาศึกษาในงานวิจัยนี้สามารถตรวจพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำตามธรรมชาติมีสมบัติในการละลายได้ดีกว่า HA และ humin ทั้งยังว่องไวในการทำปฏิกิริยาสามารถจับกับโลหะ โดยเฉพาะ Cd ได้ดังที่ได้กล่าวข้างต้น

อย่างไรก็ตามสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นกับ SRFA นี้สำหรับโลหะที่ต่างชนิดกันไม่จำเป็นต้องเหมือนหรือมีค่าเท่ากันเสมอไป จากการศึกษาของ Saar and Weber (1980) ที่ศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง SRFA กับ Pb^{2+} เทียบกับ Cu^{2+} และ Cd^{2+} พบว่า Cu^{2+} และ Cd^{2+} สามารถรวมตัวได้เป็นอย่างดีกับ FA โดยการรวมตัว Cu^{2+} -fulvate และ Cd^{2+} -fulvate จะน้อยกว่า Pb^{2+} -fulvate ที่ทำให้มีการตกตะกอนของการประกอบที่เกิดขึ้นในอัตราส่วนของโลหะไอออนต่อ FA น้อยกว่าใน Cu^{2+} -fulvate หรือ Cd^{2+} -fulvate ดังนั้นสารประกอบ Pb^{2+} -fulvate จึงมีความเสถียรน้อยกว่า สามารถละลายออกมาให้ Pb^{2+} ได้ดีกว่า Cu^{2+} และ Cd^{2+}

ตารางที่ 6 แสดงค่า K ที่ได้จากการคำนวณจาก NICA-Donnan Model ของ FA

ชนิดของ FA	$\log K_{H1}$	$\log K_{H2}$
Lake Drummond FA	2.18	8.60
Lake Drummond FA	2.28	9.43
Suwannee River FA	3.24	8.60
Bersbo FA	3.10	8.60
Gota river FA	2.89	8.15
Satilla River HS	2.35	8.56
Gota river FA-1	2.46	9.18
Lochard Forest HA	2.61	8.60
Lake Drummond FA	2.00	7.19
Whitray Beck FA	2.20	7.19
Suwannee River FA	3.01	8.60
Armadales podzol FA	3.26	8.60
Gota river FA	2.79	8.60
Laurentian Soil FA	2.41	8.60
Suwannee River FA	3.06	8.60
Tuse FA	2.40	8.37
Skagen FA	2.80	8.64
Vejen Landfill L1 FA	2.64	10.91
Vejen Landfill L2 FA	2.49	9.26
Derwent FA	2.68	9.10
Kranichsee FA	2.00	9.45
Laurentian Soil FA	3.81	7.63
Laurentian Soil FA	2.43	7.30
PUFA	2.37	8.60
Strichen FA	2.77	8.60

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Christopher *et al.* (2001)

ตารางที่ 7 แสดงค่า K ที่ได้จากการคำนวณจาก NICA-Donnan Model ของ HA

Material	$\log K_{H1}$	$\log K_{H2}$
Peat soil humic acid	3.15	8.00
Leonardite HA	-3.54	8.00
Mosedale Beck HA	2.83	8.00
Van Dijk HA	2.80	8.00
Sable silt loam HA	2.67	6.06
Whitray Fell HA	3.20	8.00
Whitray Beck HA	3.19	7.97
PPHA	2.89	8.81
Leonardite HA	3.22	8.00
Eliot silt loam HA	2.31	7.20
Kranichsee HA	1.99	8.00
Higashiyama L HA	3.36	8.75
Kinshozan P HA	3.38	7.75
Kinshozan F HA	2.95	8.00
Kinshozan OH HA	3.89	8.02
Shitara Black HA	3.44	7.57
Purified Aldrich HA	3.76	8.07
Tongbersven Forest HA	3.85	8.14
Vejen Landfill L1 HA	2.74	10.06
Vejen Landfill L2 HA	3.90	8.30
Tongbersven Forest HA	2.49	8.00
PUHA	2.77	7.07
Aldrich HA	2.87	8.00

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Christopher *et al.* (2001)

นอกจากนี้ในการทดสอบเปรียบเทียบเสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อน Cu^{2+} และ Cd^{2+} กับ SRFA ที่ศึกษาโดยนัทธรีรา และคณะ (2548) แสดงให้เห็นว่าค่าคงที่การแตกตัวของสารประกอบเชิงซ้อนทองแดงและแคดเมียมกับกรดฟลิวอิกด้วยอัตราส่วนต่อโมลของ [โลหะ]/[FA] เท่ากับ 1 : 1 ที่ความเข้มข้น 10^{-4} M เมื่อมี Chelex-100 มีค่า 9.08×10^{-4} วินาที⁻¹ และ 1.023×10^{-3} วินาที⁻¹ ค่าทั้งสองมีค่าน้อยกว่าค่าคงที่อัตราการแลกเปลี่ยน คือ 1.715×10^{-3} วินาที⁻¹ และ 2.062×10^{-3} วินาที⁻¹ ตามลำดับ ค่าคงที่ของอัตราการแตกตัวที่น้อยกว่าอัตราการแลกเปลี่ยนนี้อธิบายถึงเสถียรภาพของสารประกอบโลหะอินทรีย์มีต่อกระบวนการปลดปล่อยทองแดงและแคดเมียมไอออนที่ช้ากว่าให้แก่ Chelex-100 นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง Cd และ Cu ก็พบว่า Cu มีความชอบลิแกนด์ FA สูงกว่า Cd แสดงให้เห็นว่า Cd จะถูกปลดปล่อยออกมาและเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้มากกว่า Cu

ซึ่งจากการศึกษาทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่าสารชีวโมเลกุลมีสมบัติในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของสารอินทรีย์ชนิดนั้น ๆ ที่มีอิทธิพลต่อคุณสมบัติของสารอินทรีย์ที่มีความแตกต่างกันออกไปนั่นเอง นอกจากนี้ชนิดของโลหะที่แตกต่างกันก็ยังมีผลต่อชนิดและเสถียรภาพของสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น ให้มีความแตกต่างกันออกไปด้วย ดังนั้นการศึกษารูปแบบโลหะที่สิ่งมีชีวิตจะนำเข้าไปได้ หรือที่เรียกว่า bioavailable form ย่อมมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของสารอินทรีย์และโลหะที่แตกต่างกันตลอดจนสภาพแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการควบคุมรูปแบบต่าง ๆ อันจะมีผลต่อความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกันไปได้นั่นเอง

2. บทบาทของ FA ในสิ่งมีชีวิต

FA มีบทบาทที่สำคัญในการบำรุงความอุดมสมบูรณ์ของดิน และยังมีบทบาทต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช เนื่องจาก FA ได้มาจากหลายแหล่ง เช่น ดิน ปุ๋ยหมัก และ FA ในแต่ละแหล่งจะมีผลต่อพืชแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ วิธีการและขั้นตอนการผลิต สมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของ FA แม้จะใช้วัตถุดิบจากแหล่งเดียวกัน หากวิธีการสกัดต่างกันก็จะได้ FA ที่มีโมเลกุลต่างกันซึ่งจะมีผลต่อการเติบโตของพืชแตกต่างกันด้วย (Nutranetics, 2000)

1. กลุ่มที่มีโมเลกุลเล็กจะรวมตัวกับไอออนพวกธาตุอาหารเสริม เช่น เหล็ก ทองแดง แมงกานีส และสังกะสีได้ดีกว่าและช่วยให้ธาตุเหล่านี้เป็นประโยชน์ต่อพืชมากขึ้น

2. สารที่มีโมเลกุลซึ่งจับตัวกับไอออนของจุลธาตุ สามารถเข้าไปในเซลล์ได้ง่ายกว่า สารที่มีโมเลกุลใหญ่

3. เมื่อ HA เข้าไปในเซลล์ กรดที่มีโมเลกุลใหญ่จะจับกับเอนไซม์ในพืชทำให้เอนไซม์ผิดรูปไปจากเดิม กิจกรรมของเอนไซม์ภายในเซลล์ก็จะลดลงด้วย ซึ่งจะเป็นผลเสียต่อพืช โดยปกติ HA และ FA ที่มีโมเลกุลเล็กจะมีความสำคัญมากเนื่องจากสามารถเคลื่อนย้ายได้ง่าย ส่วนที่มีโมเลกุลใหญ่เกินไปพืชจะไม่สามารถดูดเข้าไปในเซลล์จึงมักอยู่ภายนอกเซลล์ นอกจากนี้ FA ยังมีบทบาทต่อพืชส่วนล่างมากกว่าส่วนที่อยู่เหนือดิน ในขณะที่ HA จะมีผลต่อการเติบโตของพืชส่วนเหนือดินมากกว่าส่วนล่าง และ HA ช่วยทำให้พืชทนต่อสภาพที่ขาดออกซิเจนได้ดีกว่า FA แสดงให้เห็นว่า HA ส่งผลต่อการการเติบโตของพืช HA ช่วยทำให้ธาตุอาหารในดินที่มีอยู่แล้วแต่อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ได้ยากกลายมาเป็นใช้ได้ง่ายขึ้น เช่น การรวมตัวกับเหล็ก แมงกานีส ทองแดง หรือสังกะสี เป็นคีเลตที่เป็นประโยชน์ของธาตุเหล่านั้นต่อพืช กระตุ้นเอนไซม์ในดินให้เปลี่ยนยูเรียเป็นแอมโมเนีย การกระตุ้นเอนไซม์ให้เปลี่ยนสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตที่อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ได้ยากเป็นฟอสเฟตซึ่งพืชนำไปใช้ได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ฟอสเฟตไอออนที่รวมตัวกันกับ HA ก็อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ง่ายขึ้นเช่นกัน

เป็นที่ทราบกันดีว่า FA มีประสิทธิภาพในการดูดซับธาตุอาหารและปลดปล่อยธาตุอาหารให้แก่พืชเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการเติบโต การออกดอกและผลผลิต FA ยังสามารถยึดประจุบวกของธาตุอาหารและจะปลดปล่อยธาตุอาหารนั้นออกมาเพื่อให้พืชนำไปใช้ประโยชน์ FA ยังสามารถเคลื่อนที่เข้าไปใกล้บริเวณรากของพืชซึ่งระบบรากพืชจะมีประจุลบและธาตุอาหารเสริมจะถูกปล่อยจากโมเลกุลของ FA เข้าไปสู่ระบบรากพืช FA จึงมีความสำคัญต่อการลำเลียงธาตุอาหารจากดินไปสู่รากพืช และ FA สามารถลดความเป็นพิษของโลหะที่ปนเปื้อนอยู่ตามธรรมชาติ จึงทำให้สิ่งมีชีวิตได้รับความเป็นพิษของน้อยลงเนื่องจากสมบัติของ FA สามารถจับกับโลหะทำให้เกิดการแตกตัวลดลง ดังนั้น FA จึงมีความสำคัญสำหรับสิ่งมีชีวิตอย่างมากดังตัวอย่างต่อไปนี้

Rauthan and Schnitzer (1981) ศึกษาผลของ FA ต่อการเติบโตของแตงกวาในสารละลาย Hoagland ที่เติม FA 20-2000 ppm (หรือ 2×10^{-6} - 2×10^{-3} M) เมื่อเติม FA ปริมาณน้อยตั้งแต่ 100-300 ppm (หรือ 1×10^{-5} - 3×10^{-4} M) จะมีผลทำให้การเติบโตและการพัฒนาและจำนวนของดอกต่อพืชเพิ่มขึ้น ส่วนการเติม FA ตั้งแต่ 500 ppm (หรือ 5×10^{-4} M) ขึ้นไปจะมีประโยชน์ต่อการเติบโตของพืชน้อยมาก และการเติม FA ที่น้อยกว่า 100 ppm (หรือ 1×10^{-5} M) ไม่มีผลต่อการพัฒนาและการเติบโต

Knauer and Buffle (2001) ศึกษาการดูดซับของ SRFA ต่อพื้นผิวของสาหร่ายสีเขียว ในสภาพแวดล้อมที่มีค่า pH อยู่ในช่วง 4-7 โดยทดสอบกับ SRFA ความเข้มข้น 5-100 mg/L (หรือ 5×10^{-6} - 1×10^{-4} M) พบว่ามีการดูดซับคาร์บอนบนผิวของสาหร่ายที่ pH 4-5 และไม่มีการดูดซับที่ pH 6-7 โดยค่าที่ถูกดูดซับของ SRFA ที่ถูกดูดซับที่ pH 4 มีค่าเท่ากับ $31 \text{ mg/SRFA m}^{-2}$ และที่ pH 5 มีค่า 4 mg/SRFA m^{-2} นอกจากนี้พื้นผิวของสาหร่ายยังมีความเป็นประจุลบเพิ่มขึ้น เมื่อในสารละลายมี SRFA ที่ pH 4 ซึ่งการเกิดพันธะระหว่างสารอินทรีย์กับสาหร่ายนี้ ผู้วิจัยอธิบายไว้ว่าเกิดจากพันธะ hydrogen และปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับ hydrophobic เป็นสำคัญ

Frost *et al.* (2003) ศึกษาผลของ Cd ต่อการดูดซับ FA บนผิวของ *Bacillus subtilis* โดยศึกษาที่ค่า pH ต่างๆ ตั้งแต่ 2.5-7.0 ในสารละลาย NaClO_4 ที่มีค่า ionic strength 0.1 M ที่อุณหภูมิห้อง (~ 22 °C) จากการศึกษาของ FA 0-45 mg C/L และ Cd 0-14 mg/L (หรือ $0-6.1 \times 10^{-5}$ M) ที่ pH 6.5 พบว่าความเข้มข้นของ FA จะดูดซับเพิ่มมากขึ้นเมื่อมี Cd เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่านอกจากขนาดของโมเลกุลของ FA ที่มีผลต่อการดูดซับแล้วการมีไอออนโลหะที่ละลายอยู่ด้วยจะมีผลทำให้การดูดซับ FA ด้วยเช่นกัน

การศึกษาของ Koukal *et al.* (2003) ใช้วิธีการทดสอบการยับยั้งการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายด้วยเทคนิค tangential-flow ultrafiltration (TFF) (cut-off 1 kDa) ศึกษาอิทธิพลของ humic substances (HS) ต่อโลหะที่มีความเป็นพิษเฉียบพลันต่อ *Pseudokirchneriella subcapitata* โดยใช้สารอินทรีย์มาตรฐานสามชนิด คือ ดิน และ HA ที่สกัดจากพีท และ Suwannee River fulvic acid (SRFA) ที่ความเข้มข้น 1 และ 5 mg/L (หรือ 1×10^{-6} - 5×10^{-6} M) กับโลหะสองชนิด คือ Zn 390 $\mu\text{g/L}$ (หรือ 5.9×10^{-3} M) และ Cd 200 $\mu\text{g/L}$ (หรือ 2×10^{-4} M) พบว่า HA สามารถลดความเป็นพิษของ Cd และ Zn ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ SRFA ไม่ช่วยลดพิษทั้งนี้เนื่องจากสมบัติและพฤติกรรมของ SRFA และสารประกอบเชิงซ้อนโลหะกับ SRFA ที่ค่อนข้างแตกต่างจาก HA และสารประกอบเชิงซ้อนโลหะกับ HA ดังนี้

- (1) สารประกอบเชิงซ้อน Cd และ Zn-SRFA อาจจะมีการแตกตัวอย่างรวดเร็ว
- (2) SRFA จับกันเป็นกลุ่มและจะไปเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมของโลหะเชิงซ้อนตามสมบัติของ SRFA

- (3) FA มีความสามารถต่ำในการดูดซับที่เยื่อหุ้มเซลล์เมื่อมีค่า pH > 7

จากการศึกษาข้างต้นพบว่ามีหลายปัจจัยที่ทำให้ FA มีผลต่อการดูดซับหรือความสามารถในการเข้าสู่สิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกัน เช่น ชนิดของสิ่งมีชีวิต ชนิดของโลหะ ชนิดของสารอินทรีย์ ค่า pH ที่เหมาะสม และระยะเวลาที่ได้รับต่อการเกิดปฏิกิริยาในแต่ละสถานะของสาร

แต่ละชนิดนั้นมีความสำคัญอย่างมาก นอกจากนี้ FA ยังมีประโยชน์อีกมากมายในการบำรุงดินให้มีความอุดมสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ช่วยให้พืชมีการเติบโต และเพิ่มผลผลิต อีกทั้ง FA ยังสามารถช่วยลดความเป็นพิษที่เกิดจากโลหะบางชนิดได้อีกด้วย

ผักบุ้งจีน

ผักบุ้งจีนเป็นพืชผักที่นิยมบริโภคภายในครอบครัว เป็นผักที่ราคาถูกมีคุณค่าทางด้านอาหารมากเป็นผักบำรุงสายตาที่มีสารชนิดหนึ่งที่คล้ายกับอินสุลินทำหน้าที่ลดระดับน้ำตาลเป็นผักที่มีธาตุเย็นช่วยลดความร้อนใน ขึ้นได้ดีในดินทุกชนิดชอบดินชื้นแฉะและสามารถเติบโตได้ดีในน้ำหรือการเพาะปลูกแบบ hydroponic อายุการเก็บเกี่ยวสั้น ในปัจจุบันผักบุ้งจีนได้พัฒนาไปเป็นพืชส่งออกที่มีความสำคัญอย่างมาก โดยส่งออกทั้งในรูปผักสด และ เมล็ดพันธุ์ ตลาดที่สำคัญได้แก่ ฮองกง มาเลเซีย และสิงคโปร์

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชื่อสามัญ: water convolvulus หรือ kang-kong

ตระกูล: Convolvulaceae

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Ipomoea aquatica* Forsk. Var. reptan

ในปัจจุบันผักบุ้งจีนเป็นพืชที่นิยมบริโภคกันภายในครอบครัว จนกลายมาเป็นผักส่งออกไปยังต่างประเทศ เช่น ประเทศมาเลเซีย ฮองกง และสิงคโปร์ (อภิชาติ, 2543) ผักบุ้งจีนที่ปลูกเป็นการค้าต่างๆ ไปมีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อน พบได้ทั่วไปในแอฟริกา และเอเชียเขตร้อนจนถึงมาเลเซียและออสเตรเลียที่ผลิตเมล็ดพันธุ์และในรูปผักสดในประเทศไทยและนำเข้ามาจากต่างประเทศ เช่น ใต้หวัน ผักบุ้งจีนเป็นพืชที่ใช้เวลาในการงอกเพียง 48 ชั่วโมง หลังจากที่เมล็ดงอกได้ 5-7 วัน จะมีใบเลี้ยงโผล่ออกมามีลักษณะปลายใบแหลมเป็นแฉก มีอายุการเก็บเกี่ยว 20-25 วัน เมื่อเลยเวลาที่เก็บเกี่ยวก็จะเริ่มทอดยอดและแตกกอ

ราก ผักบุ้งจีนมีรากเป็นแบบรากแก้วและมีรากฝอยที่แตกออกทางด้านข้างของรากแก้ว และรากจะเกิดที่ทุกข้อที่มีการสัมผัสกับพื้นดินหรือน้ำได้อีกด้วย

ลำต้น ผักบุ้งจีนเป็นไม้ล้มลุก ลำต้นเลื้อยทอดยอดไปตามพื้นดินที่ชื้นแฉะหรือน้ำ ลำต้นมีสีเขียว มีข้อและปล้องข้างในกลวง

ใบ ใบเดี่ยวออกแบบสลับ มีขอบใบเรียบ รูปใบคล้ายหอกโคนใบกว้างค่อยๆเรียวเล็กไปตอนปลาย ปลายใบแหลม ที่โคนใบเป็นรูปหัวใจ ใบมีความยาวประมาณ 7-15 เซนติเมตร ก้านใบยาว 3-8 เซนติเมตร

ดอกและช่อดอก ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ มีลักษณะเป็นช่อรูปประฆัง ออกที่ซอกใบ กลีบดอกมีสีขาว มีกลีบเลี้ยงสีเขียว เกสรตัวผู้ 5 อัน ยาวไม่เท่ากัน มีการผสมเกสรเป็นแบบผสมตัวเอง และมีการผสมข้ามดอกบ้างโดยลมและแมลง ดอกจะเริ่มบานในเวลาเช้า

ผล เป็นผลเดี่ยวแบบแก่ปชูลรูปรางหรือค่อนข้างกลม มีเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 1.42 เซนติเมตร ลักษณะผิวภายนอกหยาบขรุขระ ไม่แตก เมื่อแห้งสีของผลเมื่อแก่จะมีสีน้ำตาลหรือน้ำตาลเข้ม ใน 1 ผลมีเมล็ด 4-5 เมล็ด

เมล็ด มีรูปร่างเป็นสามเหลี่ยมฐานมน มีสีน้ำตาล มีขนาดเล็ก ความกว้างโดยเฉลี่ย 0.4 เซนติเมตร ยาว 0.5 เซนติเมตร (เฉลิมเกียรติ และภัสรา, 2549)

2. ประโยชน์ของผักบุ้งจีน

ในประเทศไทยญี่ปุ่นเป็นประเทศหนึ่งที่มีนิคมบริโภคผักบุ้งจีนกันมาก แต่มีปัญหาในเรื่องการผลิตที่ไม่สามารถปลูกผักบุ้งจีนได้ตลอดทั้งปีในสภาพธรรมชาติ เนื่องจากสภาพอากาศที่ไม่เอื้ออำนวย เช่น ฝน อากาศหนาวเย็นเกินไปหรือเกิดมรสุมพายุ เมื่อความต้องการบริโภคสูงแต่ผลผลิตมีไม่เพียงพอจึงทำให้ผักบุ้งจีนในญี่ปุ่นมีราคาสูงมาก ดังนั้นชาวญี่ปุ่นจึงพยายามหาวิธีการเพิ่มผลผลิตของผักบุ้งจีนด้วยวิธีการต่างๆเช่นเดียวกันกับงานวิจัยของคณะพืชสวน มหาวิทยาลัยจิบะ ประเทศญี่ปุ่นกำลังศึกษาวิจัยอยู่ในขณะนี้ได้เสนอผลงานวิจัย โดยในเบื้องต้นได้ศึกษาการนำผักบุ้งจีนมาปลูกในแหล่งน้ำเสียบริเวณทะเลสาบ Tega เพื่อช่วยบำบัดให้น้ำมีคุณภาพดีขึ้นโดยการปลูกในลักษณะเป็นทุ่นลอยน้ำ (Floating system) พบว่าผักบุ้งจีนเติบโตได้ดีและให้ผลผลิตสูง นอกจากนี้ไม่ต้องเติมสารละลายธาตุอาหารใดๆแล้วยังตรวจพบว่า น้ำในบริเวณที่ศึกษามีคุณภาพดีขึ้น เนื่องจากรากผักบุ้งจีนมีคุณสมบัติในการดึงก๊าซออกซิเจนในอากาศลงสู่น้ำช่วยเพิ่มออกซิเจนในน้ำ แสดงว่าผักบุ้งจีนเป็นพืชที่มีระบบรากที่สามารถดูดซับสารละลายธาตุอาหารได้ดีถึงแม้ในแหล่งน้ำจะมีปริมาณธาตุอาหารที่น้อยก็ตาม (วรรณภา, 2548)

ลักษณะโครงสร้างของรากพืช

ราก(root) คือ อวัยวะของพืชที่เติบโตลงสู่ดินตามแรงดึงดูดของโลก (positive geotropism) มีกำเนิดมาจาก radicle ของ embryo ซึ่งอยู่ภายในเมล็ด radicle ที่งอกออกมานั้น

ต่อไปจะเติบโตด้วยยาวออกกลายเป็นรากแก้ว (primary root หรือ tap root) รากแก้วนี้สามารถแตกแขนงออกเป็นรากแขนง (secondary root หรือ lateral root) รากของพืชบางอย่างอาจไม่ลงสู่ได้ดิน แต่ห้อยแขวนหรืออาศัยเกาะพันกับสิ่งอื่นคล้ายกับลอยอยู่ในอากาศ เรียกว่า รากอากาศ(aerial root) รากอากาศของพืชบางชนิดอาจจะมีสีเขียว แต่รากพืชโดยทั่วไปแล้วไม่มีสีเขียว (Ranen *et al.*, 2005)

1. ระบบของราก

การเติบโตของรากมีลักษณะและรูปร่างที่แตกต่างกันออกไปซึ่งสามารถแบ่งระบบของรากออกได้ 2 ระบบคือ

1. ระบบรากแก้ว (tap root system) เป็นรากที่สามารถเจริญได้ดีมีขนาดใหญ่ เห็นได้ชัดกว่ารากอื่นๆที่เกิดมาภายหลัง ระบบรากแก้วสามารถเจริญหยั่งลึกและยึดดินได้เป็นอย่างดี พืชที่มีรากแก้วคือพืชที่มีใบเลี้ยงคู่ เช่น มะนาว โหระพา มะเขือเทศ พริก และผักบุ้งจีน เป็นต้น

2. ระบบรากฝอย (fibrous root system) คือรากที่ประกอบด้วยรากที่มีขนาดเล็กเคียงกันอยู่รวมกันเป็นกระจุก ไม่มีรากใดที่เด่นชัดขึ้นมา พืชที่มีระบบรากฝอยได้แก่ พืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น ข้าว ข้าวโพด และหญ้าอาหารสัตว์ เป็นต้น

2. โครงสร้างภายนอกของราก

รากโดยทั่วไปจะมีรูปร่างเป็นทรงกระบอกยาว ไม่มีข้อปล้องเหมือนลำต้น ถ้าเติบโตอยู่ใต้พื้นดินจะไม่มีสีเขียว บริเวณปลายรากมีโครงสร้างที่ทำหน้าที่ป้องกันเนื้อเยื่อเจริญ เรียกว่า หมวกราก (root cap) ส่วนของปลายรากจะประกอบไปด้วยชั้นของเนื้อเยื่อต่างๆซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นบริเวณต่างๆได้ดังนี้

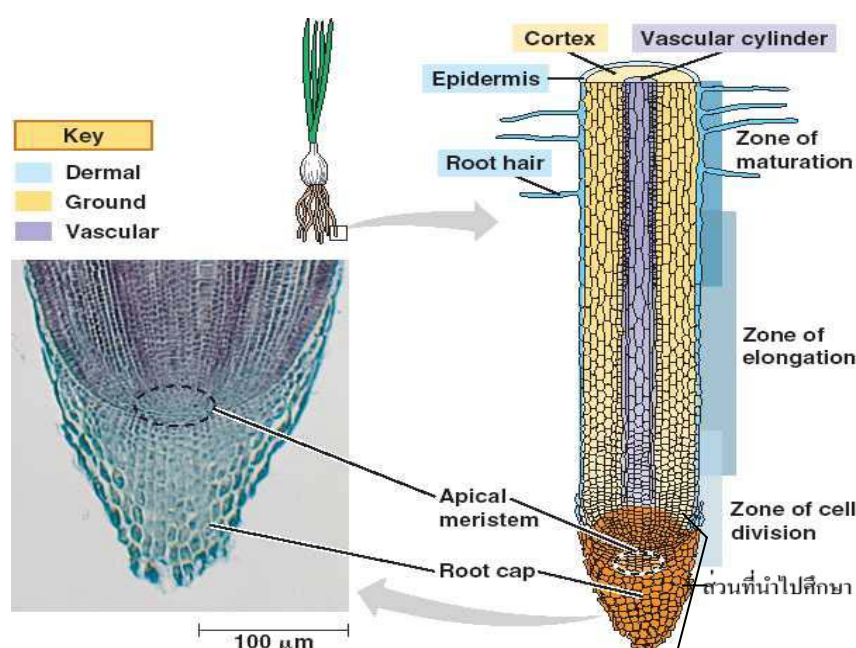
ส่วนประกอบของปลายราก (root tip) ประกอบด้วยบริเวณต่างๆ 4 บริเวณดังนี้ (อักษร, 2548)

ก. บริเวณหมวกราก (root cap) ประกอบด้วยเซลล์ที่เรียงตัวกันอย่างหลวมๆทำหน้าที่ห่อหุ้มและป้องกันอันตรายให้กับเนื้อเยื่อเจริญ (meristem) เซลล์ของ root cap จะนิยกลดอยู่เสมอเมื่อรากยาวขึ้นและแทงลงไปดิน แต่เนื้อเยื่อเจริญก็จะสร้าง root cap อยู่ตลอดเวลา(รูปที่ 2)

ข. บริเวณเซลล์ที่มีการแบ่งตัว (region of cell division) เป็นบริเวณที่อยู่ถัดจาก root cap ขึ้นไป ประกอบด้วยเนื้อเยื่อเจริญที่มีเซลล์ขนาดเล็ก ผนังเซลล์ บางภายในมีโปรโตพลา-

ถี่มาก มีการแบ่งตัวแบบ mitosis ตลอดเวลาทำให้มีเซลล์เพิ่มมากขึ้น บางส่วนจะเจริญเป็น root cap บางส่วนจะเจริญเป็นเซลล์ที่มีรูปร่างยาวขึ้นอยู่ในบริเวณที่สูงถัดจากบริเวณนี้ขึ้นไป

ค. บริเวณเซลล์ที่มีการยืดตัว (region of cell elongation) เป็นบริเวณที่อยู่ถัดจากกลุ่มเซลล์ที่เจริญมาจากการแบ่งเซลล์ เซลล์ในบริเวณนี้มี vacuole ใหญ่ขนาดเซลล์ก็ขยายใหญ่กว่า region of cell division โดยเฉพาะในทางความยาวจะยาวอย่างรวดเร็ว เป็นผลทำให้รากยาวขึ้น เซลล์บริเวณนี้จะเปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อ 3 ชนิดด้วยกัน(อักษร, 2548)คือ



รูปที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของรากพืช

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Cambell and Reece, 2007.

1. โพรโทเดิร์ม (protoderm) เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดที่หุ้มเนื้อเยื่ออื่นๆบริเวณรากไว้โดยรอบและจะเปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อชั้นผิว (epidermis) ต่อไป
2. โพรแคมเบียม (procambium) เป็นเนื้อเยื่อบริเวณส่วนกลางของรากจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นไซเล็มปฐมภูมิ (primary xylem) แคมเบียม (cambium) และโฟลเอ็มปฐมภูมิ (primary phloem)
3. ground meristem ได้แก่ ground meristem ทั่วๆไปเปลี่ยนแปลงเป็นคอร์เทกซ์ (cortex) และพิธ (pith)

ง. บริเวณเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะและเติบโตเต็มที่ (region of cell differentiation and maturation) เซลล์บริเวณนี้เปลี่ยนแปลงรูปร่างไปต่าง ๆ กัน ผนังเซลล์หนาขึ้น แบ่งเซลล์ทั้งหลายออกเป็นเนื้อเยื่อชนิดต่างๆ ได้ชัดเจน โดยผิวรอบนอกของรากจะเป็น epidermis ถัดเข้าไปเป็น cortex และ vascular bundle ในบริเวณนี้จะพบว่ารากแตกต่างจากลำต้นอย่างชัดเจน โดยเซลล์ epidermis ของรากในบริเวณนี้มี root hair แตกออกมาโดยรอบเพื่อทำหน้าที่ดูดน้ำและเกลือแร่จากดิน root hair มีอายุสั้นมาก เติบโตโดยผนังของ epidermal cell จะยื่นยาวออกไปโดยไม่มีผนังกัน ดังนั้นเซลล์ของ epidermis จึงเป็นเซลล์เดียวกับเนื้อเยื่อของรากทั้งพืชใบเลี้ยงคู่และพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่ตัดตามขวางบริเวณที่เซลล์เติบโตเต็มที่ (วิทยา, 2549)

การแบ่งเซลล์

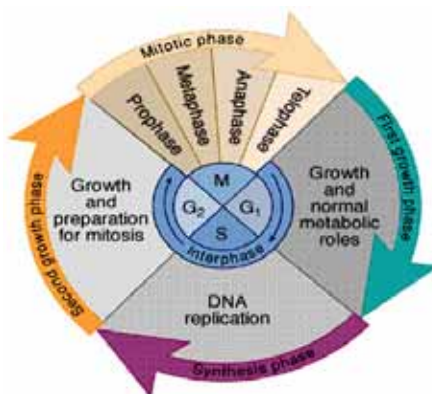
ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดจะต้องมีการสืบพันธุ์เพื่อการดำรงเผ่าพันธุ์ของตนเองไว้ การสืบพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตจึงสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ (ประดิษฐ์, 2543) คือ

1. การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศได้แก่การแตกหน่อ การสร้างสปอร์โดยมีการแบ่งตัวจาก 1 เป็น 2 ชิ้นส่วนและสามารถเจริญเป็นสิ่งมีชีวิตใหม่ ถ้าในพืชจะใช้วิธีการปักชำ ตัดตา ทาบกิ่ง ตอนกิ่ง การสืบพันธุ์แบบนี้จะเป็นการสืบพันธุ์โดยอาศัยการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) ซึ่งสิ่งมีชีวิตที่เกิดใหม่จะเหมือนกับพ่อแม่ทุกประการ

2. การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ในสิ่งมีชีวิตบางชนิดต้องมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ได้แก่ การสร้างสเปิร์ม การสร้างไข่ในสัตว์ ส่วนในพืชจะมีการสร้างละอองเรณู การสร้างไข่ การสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบนี้จะเป็นการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis) ซึ่งจะมีการลดจำนวนของโครโมโซมลงครึ่งหนึ่ง

1. การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) ในสิ่งมีชีวิตภายในเซลล์จะมีการแบ่งเซลล์ในระยะเวลาต่างๆ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การเติบโต หรือการสืบพันธุ์ ในสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวเริ่มจาก 1 เซลล์แบ่งครั้งเดียวได้เป็น 2 เซลล์ใหม่สามารถแบ่งตัวแบบไมโทซิสจะเริ่มเกิดขึ้นตั้งแต่ระยะไซโกต และสืบเนื่องกันไปตลอดจำนวนโครโมโซม หลังการแบ่งจะเท่าเดิม (2n) และจะได้เซลล์ใหม่เหมือนกันทุกประการ และยังเป็น การแบ่งเซลล์ในสิ่งมีชีวิตที่สามารถบ่งบอกความผิดปกติของการเจริญเติบโต ซึ่งในการแบ่งเซลล์สามารถแบ่งเป็นระยะต่างๆ ได้ 5 ระยะ (อักษร และคณะ, 2548) คือ

ก. **ระยะอินเตอร์เฟส (interphase)** เป็นระยะที่เซลล์มีการเติบโตเต็มที่ เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงมีเมทาบอลิซึมสูงมากใช้เวลานานที่สุดดังนั้นจะพบเซลล์ปรากฏอยู่ในระยะนี้มากที่สุด โครโมโซมมีลักษณะเป็นเส้นใยเล็กน้อย และยาวขดไปมาเรียกว่า เส้นใยโครมาทิน(chromatin) โครโมโซมจะมีความยาวมากที่สุดและประกอบด้วย 3 ระยะย่อยดังนี้ (รูปที่ 3)



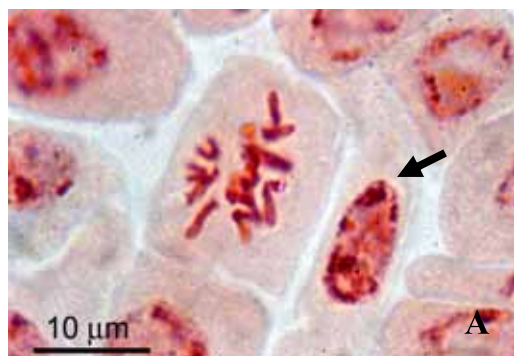
รูปที่ 3 วัฏจักรการแบ่งเซลล์

ที่มา: Shannan (2007)

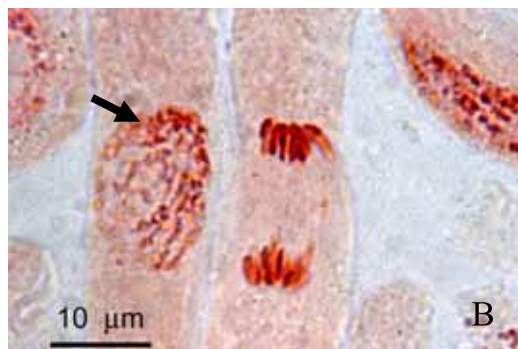
1. ระยะ G_1 (gap I หรือ first growth stage) เป็นระยะที่เตรียมพร้อมสำหรับระยะ S คือมีการเตรียมสารต่างๆที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ และมีการสังเคราะห์กรดอะมิโน โปรตีนต่าง ๆ เอนไซม์ และแหล่งพลังงานต่างๆตลอดจนการดีไปรเมอร์เข้ากับสายดีเอ็นเอ ต้นแบบ เพื่อการจำลองตัวเองของแต่ละโครโมโซมหรือโครมาทินในระยะนี้มีเพียงโครมาติดเดียว เกิดขดคลายออกเป็นเส้นยาวกระจายอยู่ภายในเยื่อหุ้มนิวเคลียส ระยะนี้ใช้เวลา 30-50 เปอร์เซ็นต์ของวัฏจักรเซลล์

2. ระยะ S (synthetic stage) ก่อนที่จะเข้าสู่ในระยะนี้โครโมโซมแต่ละแท่งจะประกอบไปด้วยโครมาติด 1 เส้น เมื่อถึงระยะ S จะมีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ หรือมีการจำลอง โมเลกุลดีเอ็นเอ (DNA replication) ใหม่ เป็นผลให้มีการจำลองโครมาติด (sister chromatid) จึงทำให้โครโมโซมมีโครมาติด 2 เส้น ในระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 30-50 เปอร์เซ็นต์ของวัฏจักรการแบ่งเซลล์เพื่อให้โครโมโซมมีการจำลองตัวเองเพิ่มจากหนึ่งเป็นสองโครมาติด

3. ระยะ G_2 (gap II หรือ second growth stage) เป็นระยะที่เซลล์มีการสร้างสารที่จำเป็นต่อการขดตัวของโครโมโซม มีการสังเคราะห์โปรตีนสำหรับใช้ในการแบ่งนิวเคลียส ตลอดจนมีการถอดรหัสอาร์เอ็นเอในตอนปลายของระยะนี้ ระยะนี้ใช้ระยะเวลาประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ของวัฏจักรการแบ่งเซลล์



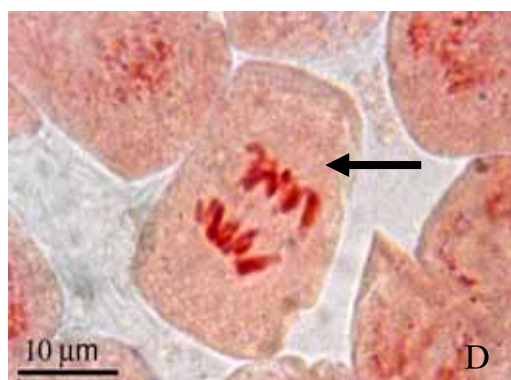
Interphase



Prophase



Metaphase



Anaphase



Telophase

รูปที่ 4 การแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสของเซลล์ปลารากโสนกินดอก

A). interphase B). prophase C). metaphase D). anaphase E). telophase

ข. ระยะโพรเฟส (prophase) ระยะนี้โครโมโซมจะหดตัวสั้นลงทำให้เห็นได้ชัดเจนมากขึ้น เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นโครโมโซมมีลักษณะคล้ายเส้นด้าย และโครโมโซม 1 แท่งมี 2 โครมาติด ในระยะนี้เยื่อหุ้มนิวเคลียสของสิ่งมีชีวิตเกือบทุกชนิดจะเริ่มสลายตัวไป(รูปที่ 4)

ค. ระยะเมทาเฟส (metaphase) ระยะนี้ไมโทติสปีนเคิลจะหดตัว โครโมโซมจะถูกดึงไปเรียงตัวอยู่ในแนวกึ่งกลางเซลล์ โครโมโซมหดสั้นมากที่สุด ระยะนี้จึงเหมาะมากที่สุดต่อการนับจำนวนโครโมโซม จัดเรียงโครโมโซมเป็นคู่ๆ หรือที่เรียกว่าแคริโอไทป์ (karyotype) หรือเหมาะต่อการศึกษารูปร่างความผิดปกติ ของโครโมโซม (รูปที่ 4)

ง. ระยะแอนาเฟส (anaphase) ระยะนี้โครโมโซมแยกตัวออกจากกันโครโมโซมจะค่อยๆ เคลื่อนไปยังแต่ละขั้วของเซลล์ โครโมโซมในระยะนี้จะเพิ่มจาก $2n$ เป็น $4n$ ใช้เวลาสั้นที่สุด (รูปที่ 4)

จ. ระยะเทโลเฟส (telophase) เป็นระยะสุดท้ายของการแบ่งเซลล์ โดยโครโมโซมที่แยกออกจากกันจะได้โครโมโซมที่เหมือนกัน 2 ชุด ที่เคลื่อนตัวไปที่ขั้วเซลล์เริ่มคลายเกลียวและยึดตัวออกเพื่อเข้าสู่ระยะอินเทอร์เฟสใหม่ (รูปที่ 4) (ประดิษฐ์, 2546)

เมื่อสิ้นสุดการแบ่งนิวเคลียสก็จะมีการแบ่งไซโทพลาสซึมเพื่อให้เกิดเป็นเซลล์ 2 เซลล์ บริเวณกึ่งกลางของเซลล์จะเกิดโครงสร้างเชิงซ้อนเรียกว่า เซลล์เพลท (cell plate) และแฟรกโมพลาสต์ (fragmoplast) เมื่อมีการแบ่งไซโทพลาสซึมแล้วก็จะสิ้นสุดการแบ่งเซลล์จึงทำให้ได้เซลล์ลูก 2 เซลล์ (อัษฎร และคณะ, 2548)

2. การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis) โดยทั่วไปจะเกิดกับเซลล์ที่จะทำหน้าที่เป็นเซลล์สืบพันธุ์ จึงมีการแบ่งเซลล์เพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์เริ่มจาก 1 เซลล์ แบ่ง 2 ครั้งได้เป็น 4 เซลล์ใหม่และไม่สามารถแบ่งตัวแบบไมโอซิสได้อีก เนื่องจากการแยกคู่ของโฮโมโลกัสโครโมโซม ทำให้เซลล์ใหม่มีจำนวนโครโมโซมครึ่งหนึ่งของเซลล์เดิม (n) เกิดไซแนปซิส ไคแอสมา และมักเกิดครอสซิงโอเวอร์ในลักษณะของสารพันธุกรรมและโครโมโซม ในเซลล์ใหม่อาจเปลี่ยนแปลงและแตกต่างกัน

ลักษณะความผิดปกติของสารพันธุกรรมพืช

จากการใช้พืชเป็นตัวทดสอบการปนเปื้อนโลหะในดินและน้ำ โดยการประเมินการปนเปื้อนของโลหะต่อความผิดปกติของสารพันธุกรรม โดยทั่วไปความผิดปกติที่นิยมตรวจสอบ

ได้แก่ micronucleus, laggard chromosome, chromosome fragment, chromosome bridge และ disturbed chromosome ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ (รูปที่ 5)

1. **Micronucleus** หมายถึง นิวเคลียสขนาดเล็กซึ่งภายในบรรจุชิ้นส่วนของโครโมโซม บางส่วนที่เกิดจากการแตกหักของโครโมโซมในกระบวนการแบ่งเซลล์

2. **Laggard chromosomes** หรือ **Vagrant chromosome** หมายถึง โครโมโซมที่อยู่ในไซโทพลาสซึมในระยะ anaphase เนื่องจากความล้มเหลวในการ synapsis บริเวณเซนโทรเมียร์ของ sister chromatid ในระยะ prophase ในบางครั้งโครโมโซมบางแท่งไม่เคลื่อนเข้าไปหาขั้วเซลล์หรือเคลื่อนเข้าสู่ขั้วเซลล์ช้ากว่าโครโมโซมแท่งอื่นและอาจเกิดการสูญหายถ้าเคลื่อนที่ช้ามากทำให้เกิดเยื่อหุ้มนิวเคลียสที่ขั้วเซลล์ขึ้นก่อนที่แอกการ์ดจะเคลื่อนที่ไปถึง (อักษรและคณะ, 2548)

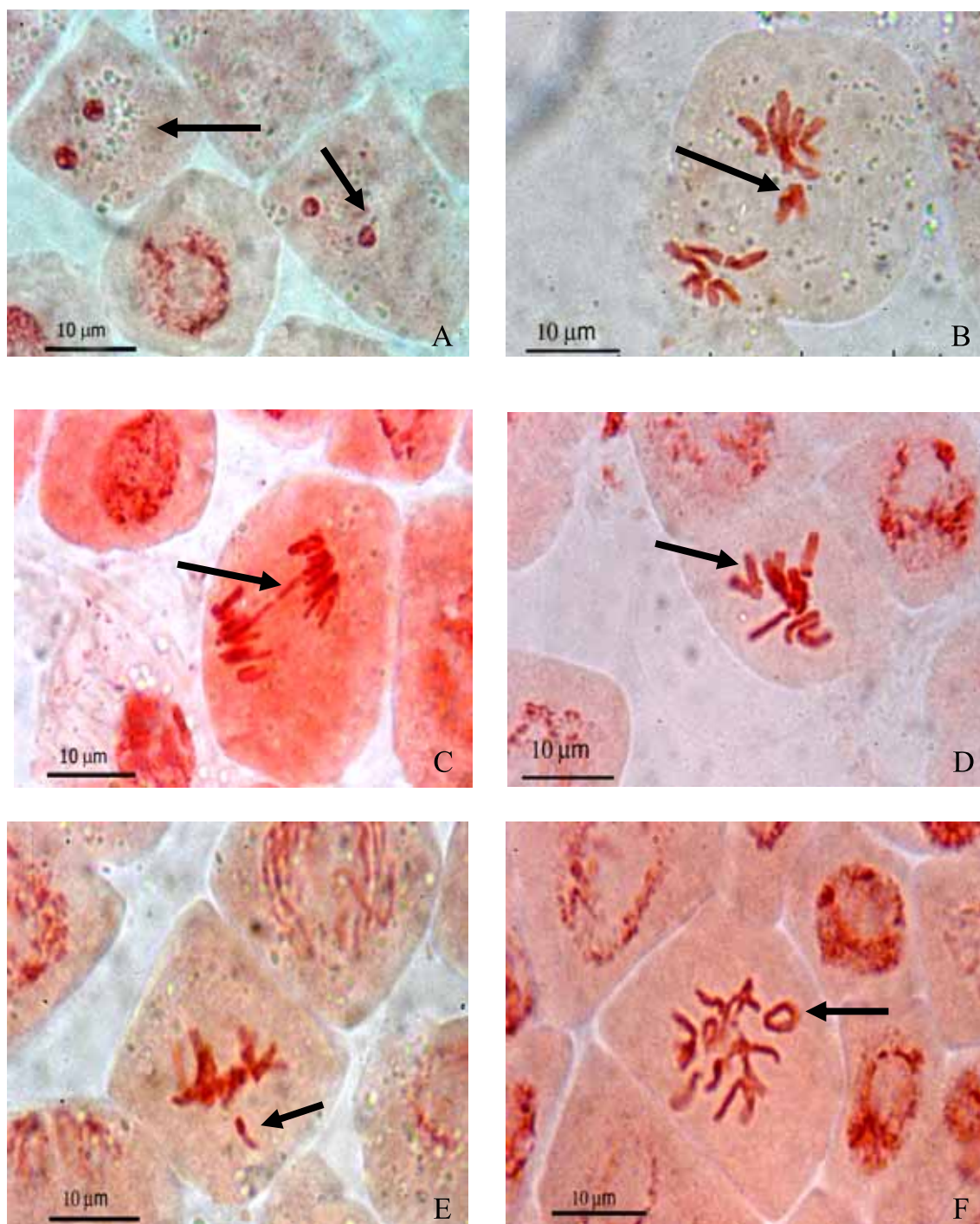
3. **Chromosome fragment** หมายถึง เศษชิ้นส่วนของโครโมโซมที่ปราศจากเซนโทรเมียร์ที่เกิดมาจากการแตกหักของโครโมโซม

4. **Chromosome bridge** หมายถึง ความผิดปกติที่เกิดจากโครโมโซมที่มีลักษณะผิดปกติคือมีตำแหน่งของเซนโทรเมียร์ 2 ตำแหน่ง เมื่อการแบ่งเซลล์เข้าสู่ระยะแอนนาเฟส sister chromatid ถูกแยกเข้าสู่ขั้วเซลล์จึงเกิดลักษณะคล้ายสะพานเชื่อมกลุ่มของโครโมโซมในแต่ละขั้วเซลล์โคแอสม่า และมักเกิดโครอสซิงโอเวอร์ในลักษณะของสารพันธุกรรมและโครโมโซม ในเซลล์ใหม่อาจเปลี่ยนแปลงและแตกต่างกัน

5. **Disturbed chromosome** หมายถึง โครโมโซมที่ถูกรบกวนการทำงานของเส้นใยสปินเดิลทำให้ไม่อยู่ในบริเวณที่เหมาะสม เช่น disturbed metaphase จะพบว่าโครโมโซมบางเส้นไม่เรียงตัวในแนวกลางเซลล์

6. **Sticky chromosome** หมายถึง รูปร่างของโครโมโซมเหล่านี้เปลี่ยนแปลงน้อยมาก โครโมโซมหรือโครมาติดเกิดการแตกหักได้ทำให้เกิดปลายเหนียว

7. **Chromosome ring** หมายถึง การเกิด deletion ของโครโมโซมที่ไม่มีเซนโทรเมียร์ทำให้เกิดเป็นโครโมโซมวงแหวน (ring chromosome)



รูปที่ 5 ลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมบริเวณเซลล์ปลายรากของโสนกินดอก

A). Micronucleus (MN) B). lagged chromosome C). chromosome bridge D). disturb chromosome E). fragment chromosome F). chromosome ring

บทที่ 3

อุปกรณ์และสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาแคดเมียมต่อความผิดปกติทางพันธุกรรมของผักบุ้งจีนเป็นชนิด analytical grade มี CAS No. และบริษัทผู้จัดจำหน่ายแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 รายชื่อสารเคมีและบริษัทผู้จัดจำหน่าย

ชื่อสารเคมี	บริษัท
Acetic acid	J.T.Baker Cas No. 64-19-7
Cadmium chloride	Sigma Cas.No. 7790-78-5
Orcein stain	BDH Gurr Certistain Cas. 2015/04/30
Hydrochloric acid	J.T. Baker Cas. No. 7647-01-0
95 %Ethyl alcohol	องค์การสุรา กรมสรรพสามิต
Fulvic acid	International Humic Substance Society (IHHS)
65% Nitric acid (Suprapur grade)	Merck Cas. No. 7697-37-2

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัยแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 รายชื่ออุปกรณ์และบริษัทผู้จำหน่าย

ชื่ออุปกรณ์	บริษัท
Counter	Arrow AR-404 บริษัทแพลตตินัม จำกัด
Beaker พลาสติก	บริษัท เอ.เอ็น.เอช. ไชยเอ็นทีฟิค มาร์เก็ตติ้ง จำกัด
Cover slip (22 x 22 mm.)	Menzel – Glaser
Cylinder	บริษัท เอ.เอ็น.เอช. ไชยเอ็นทีฟิค มาร์เก็ตติ้ง จำกัด
Tube	บริษัท เอ.เอ็น.เอช. ไชยเอ็นทีฟิค มาร์เก็ตติ้ง จำกัด

ตารางที่ 9 รายชื่ออุปกรณ์และบริษัทผู้จำหน่าย (ต่อ)

ชื่ออุปกรณ์	บริษัท
Microscope slide	บริษัท เอ.เอ็น.เอช. ไซแอนทิฟิก มาร์เก็ตติ้ง จำกัด Cat.No.7101
Auto pipette	Drummond บริษัทธีระเทรคดิง จำกัด
เครื่องชั่งสารแบบละเอียด	Stories
Micropipette	BH-720060 บริษัททกบไทย จำกัด
pH meter	Hanna
Microscope	Olympus
Incubator	memmert บริษัทเบคไทย กรุงเทพอุปกรณ์เคมีภัณฑ์ จำกัด
Pipette	บริษัท เอ.เอ็น.เอช. ไซแอนทิฟิก มาร์เก็ตติ้ง จำกัด
กล้อง Digital	Sony
กล่องพลาสติกขนาดใหญ่	-
เมล็ดผักบุงจีน	พันธุ์ไผ่ศรีสุข
Wide-Mouth Bottle HDPE 60 mL	บริษัทเบงเทรคดิง 1992 จำกัด Cat.No.2104-0002
Forceps	-
กระดาษซับ	-
มีดผ่าตัด	-
Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)	บริษัท Perkin Elmer Model 2380

บทที่ 4

วิธีการทดลอง

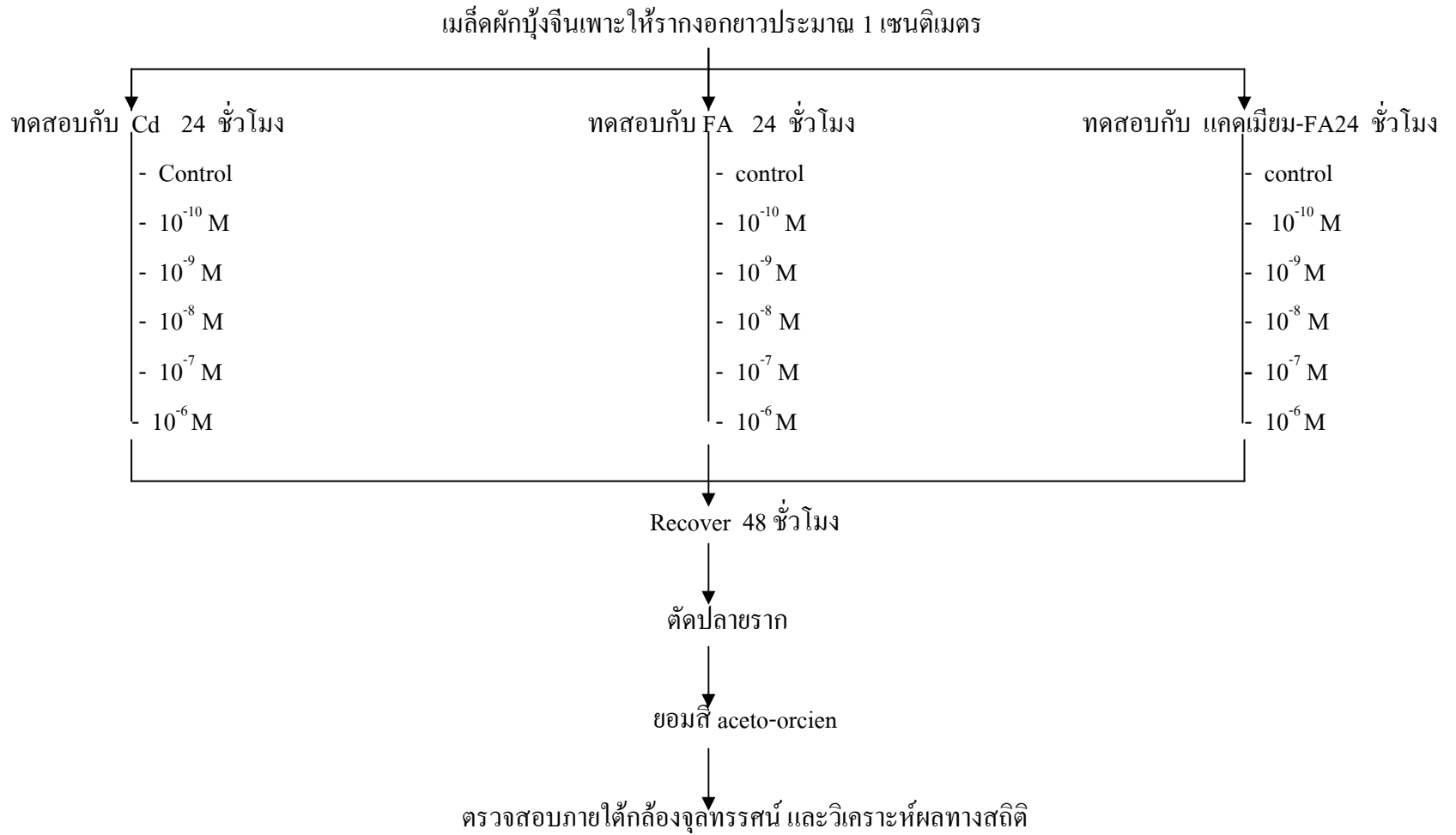
วิธีการศึกษา

1. การเตรียมเมล็ดพืชสำหรับการทดสอบ

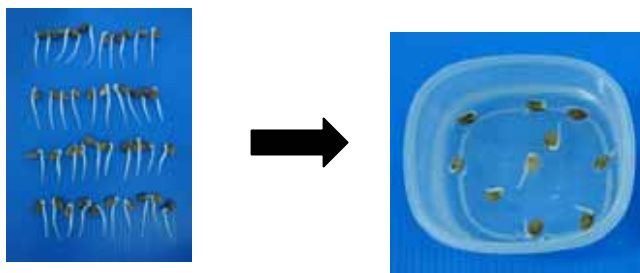
เมล็ดพืชที่นำมาใช้ในการทดสอบกับโลหะหนักคือเมล็ดผักบุงจีน นำเมล็ดผักบุงจีนมาคัดเลือกเมล็ดที่มีความสมบูรณ์ (โดยนำไปลอยน้ำเลือกเมล็ดที่ลอยน้ำทิ้ง และคัดเลือกเมล็ดที่มีแมลงเจาะและเมล็ดลีบออก) แล้วจึงนำไปแช่ในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Sang, 2006) หลังจากนั้นย้ายเมล็ดมาเพาะในกล่องพลาสติกที่ปูด้วยกระดาษทิชชู 2-3 ชั้น และปิดด้วยกระดาษทิชชู 2-3 ชั้นพรมน้ำให้กระดาษทิชชูมีความชื้นพอประมาณหลังจากเพาะประมาณ 3-4 วันเมล็ดเริ่มงอกและทำการคัดเลือกเมล็ดที่มีความยาวของรากประมาณ 1 เซนติเมตรและขนาดของเมล็ดใกล้เคียงกันเพื่อนำไปทดสอบกับโลหะหนัก (รูปที่ 6)

2. วิธีการทดสอบสารละลายแคดเมียม, Cd-FA และชุดควบคุม FA กับเมล็ดผักบุงจีน

หลังจากเพาะเมล็ดผักบุงจีนที่มีอายุ 3-4 วัน และมีความยาวรากประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วจึงนำเมล็ดผักบุงจีนมาทดสอบกับสารละลายแคดเมียม, Cd-FA และชุดควบคุม 2 แบบ (ได้แก่ DI และ FA) ที่ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M โดยใช้ความเข้มข้นละ 10 เมล็ด (รูปที่ 7) ทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เช่นเดียวกับการทดลองของ Jiang *et al.* (2000) และ Srivastava *et al.* (2005) จากนั้นลอยในสารละลายโดยใช้แผ่นพลาสติกใสเจาะรูขนาดเท่ากับเมล็ดของผักบุงจีนและวางแผ่นพลาสติกในกล่องที่มีสารละลายอยู่แล้วจึงวางเมล็ดผักบุงจีนบนแผ่นพลาสติกที่เจาะรู โดยให้ส่วนของรากจุ่มลงไป ในสารละลายที่อยู่ในกล่องพลาสติกขนาดเล็กหรือ DI ในกรณีที่เป็นการชุดควบคุม เมื่อครบเวลาที่ทดสอบแล้วจึงย้ายเมล็ดผักบุงจีนที่ทดสอบกับสารละลายทดสอบไปลงในน้ำ DI โดยใช้ภาชนะใหม่เพื่อทำการ recover เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อให้ต้นผักบุงจีนได้มีการฟื้นตัว เช่นเดียวกับการทดลองของ Ma *et al.* (1995) และ Grant and Owens (2001)



รูปที่ 6 แสดงขั้นตอนการทดสอบกับสารละลาย แคดเมียม Cd-FA และ FA



รูปที่ 7 การทดสอบเมล็ดปักบุงจีนในสารละลายทดสอบ

3. วิธีการเก็บรักษาปลายราก

วิธีการเก็บรักษาปลายรากดัดแปลงมาจาก Cotellet *et al.*(1999) หลังจากตัดปลายรากยาวประมาณ 1 เซนติเมตร (รูปที่ 8) นำไปเก็บรักษาด้วย ethyl alcohol และ acetic acid (3: 1) ที่เตรียมใหม่ๆ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำปลายรากที่เก็บรักษาไว้นำมาล้างน้ำกลั่น 3 ครั้ง และเปลี่ยนเป็น 70% ethyl alcohol ที่เตรียมใหม่ๆแล้วจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C จนกว่าจะไปตรวจสอบดิจิทัลกล้อง SONY Cybershot DSC-N1



ตัดปลายรากประมาณ 1 เซนติเมตร



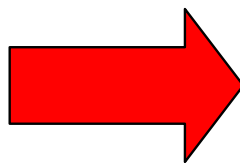
เก็บรักษาใน Fixative

รูปที่ 8 วิธีการตัดปลายราก

4. วิธีการย้อมด้วยสี Aceto-orcein

วิธีการย้อมสีปรับปรุงมาจาก Grant and Owens (2006) นำรากที่เก็บรักษาไว้ใน Fixative (acetic acid: ethanol; 1: 3 v/v) นำปลายรากมาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง นำรากมา hydrolysis ใน 1N HCl ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 5 นาที เพื่อย่อยสลายผนังเซลล์และละลายเพคตินที่เป็นส่วนประกอบของ middle lamella ทำให้เซลล์แยกตัวจากกัน แล้วจึงนำปลายรากมาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ตัดเฉพาะส่วนของปลายรากที่มีสีเข้มด้วยใบมีดโกน วางบน

กระจกสไลด์และหยดด้วยสี aceto-orcein 2-3 หยด ทิ้งไว้ 10-15 นาที หลังจากนั้นย้ายปลายรากที่ผ่านการย้อมสีแล้วมาวางบนสไลด์ที่สะอาดหยดสี aceto-orcein 1-2 หยด และปิดด้วย cover slip นำไปทาบด้วยปลายคินสอที่มียางลบภายใต้กระดาษซับเพื่อให้เนื้อเยื่อพืชกระจายตัว แล้วจึงกดสไลด์ผ่านกระดาษทิชชูหรือกระดาษซับอีกครั้งดังรูปที่ 9 และ 10



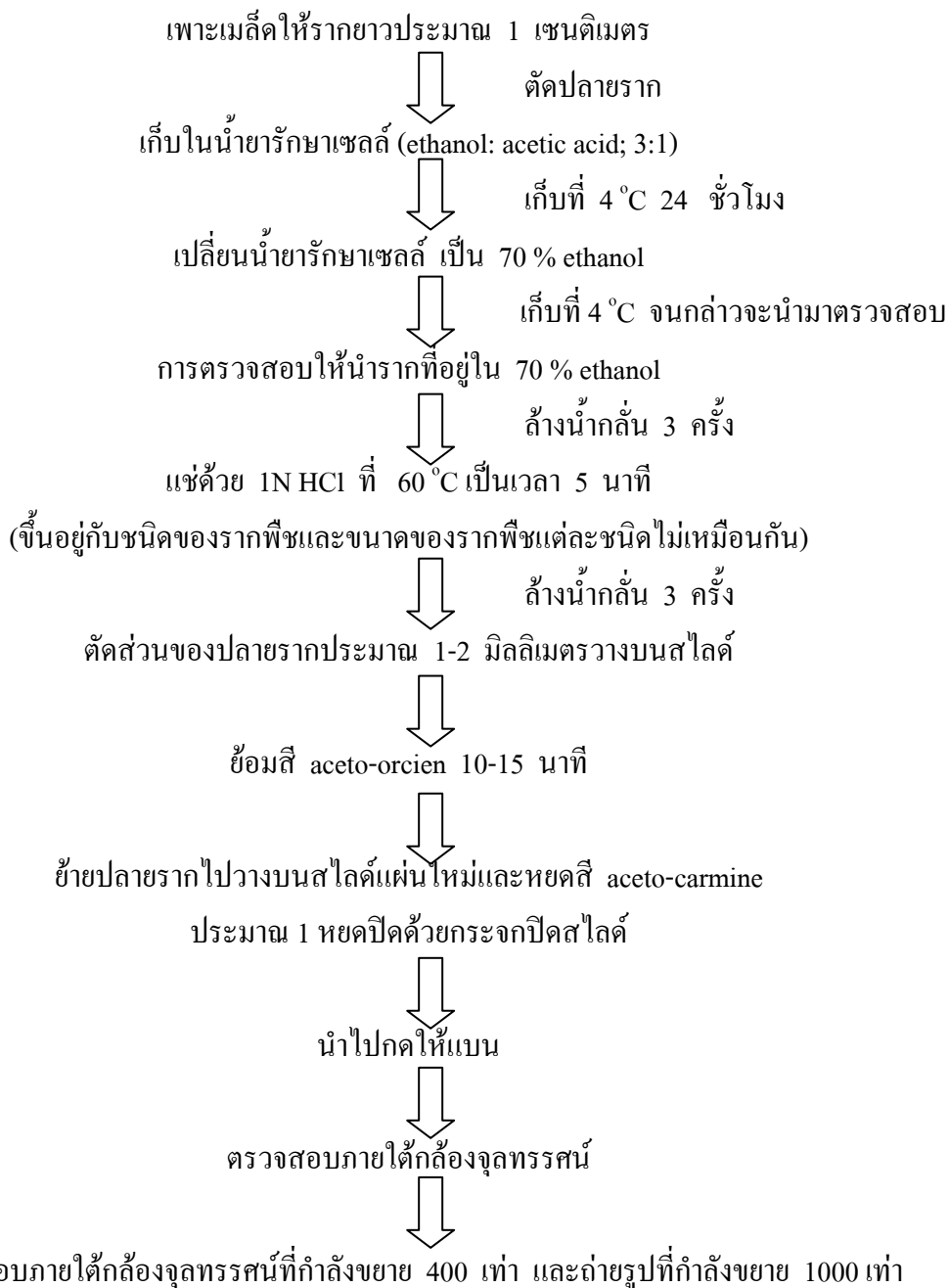
การย้อมสี aceto-orcein 15 นาที
รูปที่ 9 วิธีการย้อมสีปลายราก

ทาบด้วยปลายคินสอเพื่อให้เซลล์กระจายตัว

5. การเก็บผลการทดลอง

ตรวจหาเซลล์ในระยะ interphase, prophase, metaphase, anaphase และ telophase และเซลล์ที่เกิดความผิดปกติได้แก่ laggard chromosome, chromosome fragment, chromosome bridge และ disturbed chromosome ในแต่ละความเข้มข้นของการทดลองจะตัดรากจำนวน 10 รากไปเตรียมสไลด์ 10 แผ่น สไลด์ละ 1 ราก และตรวจนับจำนวนเซลล์ทั้งหมด 1000 เซลล์ต่อสไลด์ ทำการนับที่กำลังขยาย 1500 เท่า จำนวน 10 สไลด์ต่อสารละลายที่ทดสอบ (1 treatment นับ 10,000 เซลล์) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1500 เท่า บันทึกผลในตารางบันทึกผลการทดลองและนำมาคำนวณค่า MI (%) และ MA (%) พร้อมทั้งบันทึกภาพด้วยกล้องดิจิทัล Sony รุ่น N1 ผลิตโดยบริษัท Sony

ขั้นตอนการเตรียมโครโมโซม



รูปที่ 10 แสดงขั้นตอนการเตรียมโครโมโซมบริเวณปลายรากผักบุ้งจีน

6. วิธีการคำนวณ

Mohanty *et al.* (2004) ได้ใช้วิธีการคำนวณค่า MI (%) คือค่าที่บอกจำนวนเซลล์ที่อยู่ในระยะ prophase, metaphase, anaphase และ telophase ต่อจำนวนเซลล์ที่สุ่มตรวจนับทั้งหมด ในการคำนวณจะไม่นำค่าการแบ่งเซลล์ในระยะ interphase มาคำนวณด้วยเนื่องจาก interphase ถูกตัดออกจากการคำนวณค่า MI (%) เพราะในระยะ interphase ตามคำจำกัดความจะอยู่ในช่วงของการเตรียมความพร้อมสำหรับการแบ่งเซลล์ก่อนถึงระยะ mitosis จึงไม่นำมาคิดคำนวณ ดังนั้นในปัจจุบันการคิดค่า MI (%) ที่ใช้ทั่วไปจึงหมายถึง ผลรวมของ prophase + metaphase + anaphase + telophase/จำนวนเซลล์ทั้งหมด และยังใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบันซึ่งค่า MI (%) นี้ ทำให้ทราบว่าในการทดลองสามารถพบเซลล์ที่อยู่ในระยะต่างๆ ได้มากน้อยเพียงใด โดยคำนวณจาก

$$\text{Mitotic Index(\%)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่อยู่ในระยะ mitosis}}{\text{จำนวนเซลล์ที่สุ่มตรวจนับทั้งหมด}} \times 100$$

ค่า MA (%) คือค่าที่บอกจำนวนเซลล์ที่มีการแบ่งเซลล์ผิดปกติต่อจำนวนเซลล์ในระยะ prophase, metaphase, anaphase และ telophase ทั้งหมดทำให้ทราบว่าในการทดลองพบเซลล์ที่ผิดปกติได้มากเพียงใดโดยคำนวณได้จาก

$$\text{Mitotic aberration (\%)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่เกิดความผิดปกติทั้งหมด*}}{\text{ผลรวมของเซลล์ในระยะ mitosis}} \times 100$$

*ผลรวมของเซลล์ที่ผิดปกติได้แก่ micronuclei, chromosome bridges, laggard chromosome, ring chromosome, chromosome fragments และ disturbed chromosome

7. วิธีการเปรียบเทียบทางสถิติ

ในการเปรียบเทียบค่าทางสถิติโดยใช้วิธี One-way ANOVA โดยวิธี Duncan เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจากผลการทดสอบความเข้มข้นของสารละลายแคดเมียม, Cd-FA และชุดควบคุม DI, FA ความเข้มข้นต่างๆ ที่สามารถชักนำให้เกิด MI (%) และ MA (%) ในเมล็ดผักบุ้งจีนที่กำลังงอก

บทที่ 5

ผลการทดลอง

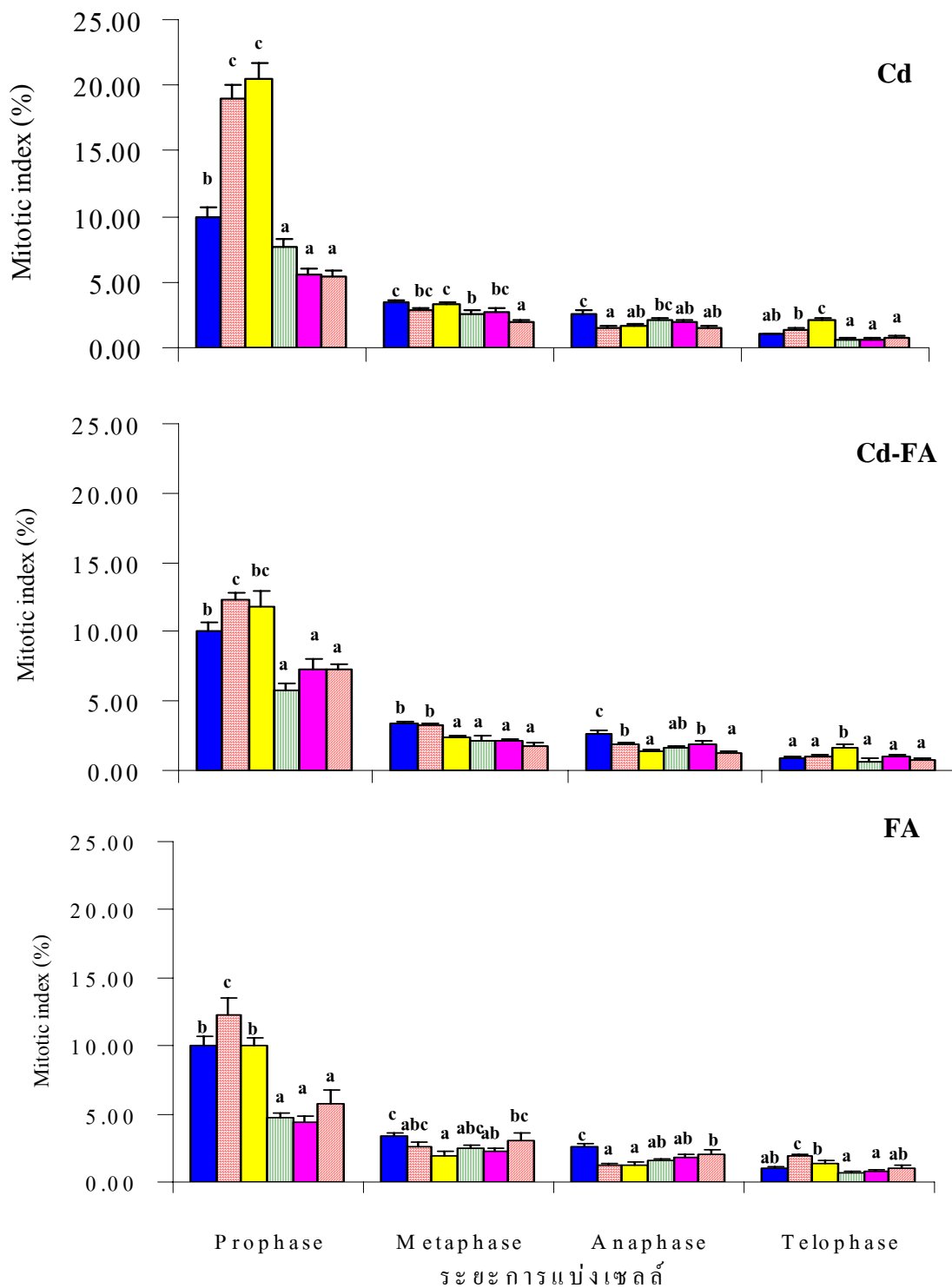
ผลการทดสอบความผิดปกติต่อสารพันธุกรรม

จากการทดลองศึกษาความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของสารละลายแคดเมียม (Cd), สารประกอบเชิงซ้อนแคดเมียม-กรดฟัลลิก (Cd-FA) และชุดควบคุม 2 แบบ (ได้แก่ DI และ FA) ต่อเซลล์บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีนโดยใช้สารละลาย Cd, Cd-FA ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M และชุดควบคุม DI และ FA ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M ทดสอบกับ เมล็ดผักนึ่งจีนที่กำลังงอกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไป recover เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำไปตรวจสอบความผิดปกติของสารพันธุกรรม ได้แก่ chromosome bridge, disturb chromosome, fragmented chromosome และ laggard chromosome

1. ผลการทดสอบสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA สามารถชักนำให้เกิด MI (%) ในการแบ่งเซลล์ระยะต่างๆ บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีน

เมื่อทดสอบความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA เพื่อตรวจสอบลักษณะการแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีนพบว่าความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M และชุดควบคุม DI สามารถชักนำให้เกิด MI (%) แสดงผลการทดลองรูปที่ 11

Prophase อัตราการแบ่งเซลล์จะลดต่ำลงตามความเข้มข้นของสารละลาย Cd ที่เพิ่มขึ้น และสารละลาย Cd มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-9} และ 10^{-10} M ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase รองลงมาได้แก่ ชุดควบคุม DI และระดับที่ 3 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase น้อยที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} และ 10^{-8} M ซึ่งสามารถเขียนเป็นลำดับผลกระทบที่มีต่อการแบ่งเซลล์ในระยะนี้ได้ดังนี้ 10^{-9} , 10^{-10} M > DI > 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M



รูปที่ 11 ผลของสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MI บริเวณปลายรากของผักบุงจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

■ DI ▣ 10⁻¹⁰ M ■ 10⁻⁹ M ▤ 10⁻⁸ M ■ 10⁻⁷ M ▨ 10⁻⁶ M

T : แสดงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error; SE)

Metaphase อัตราการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase จะลดลงตามความเข้มข้นของสารละลาย Cd ที่เพิ่มขึ้น และสารละลาย Cd มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase มากที่สุด ได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-9} M และชุดควบคุม DI ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-8} M และระดับที่ 3 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase น้อยที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} M ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบที่มีต่อการแบ่งเซลล์ในระยะนี้ได้ดังนี้ 10^{-9} M, $DI > 10^{-8}$ M $> 10^{-6}$ M สำหรับความเข้มข้น 10^{-7} , 10^{-10} M นั้นชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ไม่แตกต่างกับความเข้มข้น 10^{-9} M, DI และ 10^{-8} M แต่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับ 10^{-6} M

Anaphase อัตราการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 2 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase มากที่สุดได้แก่ ชุดควบคุม DI และระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase น้อยได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M และระดับ ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ในระยะนี้ได้ดังนี้ $DI > 10^{-10}$ M สำหรับความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-9} M นั้นชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ไม่แตกต่างกัน ส่วนความเข้มข้น 10^{-8} M นั้นมีการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์น้อยกว่าชุดควบคุม DI

Telophase อัตราการแบ่งเซลล์ในระยะนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ telophase มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-9} M ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ telophase รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม DI และระดับที่ 3 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ telophase น้อยที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} และ 10^{-8} M ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ได้ดังนี้ 10^{-9} M $> 10^{-10}$ M $> 10^{-6}$, 10^{-7} , 10^{-8} M สำหรับชุดควบคุม DI ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์น้อยกว่าความเข้มข้น 10^{-9} M อย่างมีนัยสำคัญ

การทดสอบสารละลาย Cd-FA (อัตราส่วน 1:1) เพื่อตรวจสอบลักษณะการแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีนพบว่าสารละลาย Cd-FA ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M และชุดควบคุม DI สามารถชักนำให้เกิดแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีนแสดงผลดังรูปที่ 11

Prophase สารละลาย Cd-FA มีผลต่อการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase รองลงมาได้แก่ ชุดควบคุม DI และระดับที่ 3 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase น้อยที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} และ 10^{-8} M ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ในระยะนี้ได้ดังนี้ 10^{-10} M > DI > 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M สำหรับความเข้มข้น 10^{-9} M ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ไม่แตกต่างกับความเข้มข้น 10^{-10} M และ DI

Metaphase พบว่าสารละลาย Cd-FA สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 2 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase มากกว่าได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M และชุดควบคุม DI และระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase น้อยได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} และ 10^{-9} M ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม DI ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ในระยะนี้ได้ดังนี้ 10^{-10} M, DI > 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} M

Anaphase พบว่าสารละลาย Cd-FA สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase มากที่สุดได้แก่ ชุดควบคุม DI ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-10} M และระดับที่ 3 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase น้อยที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} และ 10^{-9} M ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ในระยะนี้ได้ดังนี้ DI > 10^{-7} , 10^{-10} M > 10^{-9} , 10^{-6} M สำหรับความเข้มข้น 10^{-8} M ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ไม่แตกต่างระหว่างความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-9} , 10^{-10} M > M

Telophase พบว่าสารละลาย Cd-FA สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ telophase ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 2 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ telophase มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-9} M DI และระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ telophase รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-10} M และชุดควบคุม เพียงความเข้มข้นเดียวที่สามารถชักนำให้เกิด

การแบ่งเซลล์ในระยะ telophase ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ในระยะนี้ได้ ดังนี้ $10^{-9} \text{ M} > \text{DI}$, 10^{-10} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} M

เมื่อทดสอบสารละลาย FA เพื่อตรวจสอบลักษณะการแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากของผักบั้งจีนพบว่าสารละลาย FA สามารถชักนำให้เกิด MI (%) แสดงผลดังรูปที่ 11

Prophase พบว่าสารละลาย FA สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-9} M และชุดควบคุม DI และระดับที่ 3 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase น้อยที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} และ 10^{-8} M ซึ่งมีค่าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ และสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ในระยะนี้ได้ดังนี้ $10^{-10} \text{ M} > 10^{-9} \text{ M}$, $\text{DI} > 10^{-6}$, 10^{-7} , 10^{-8} M

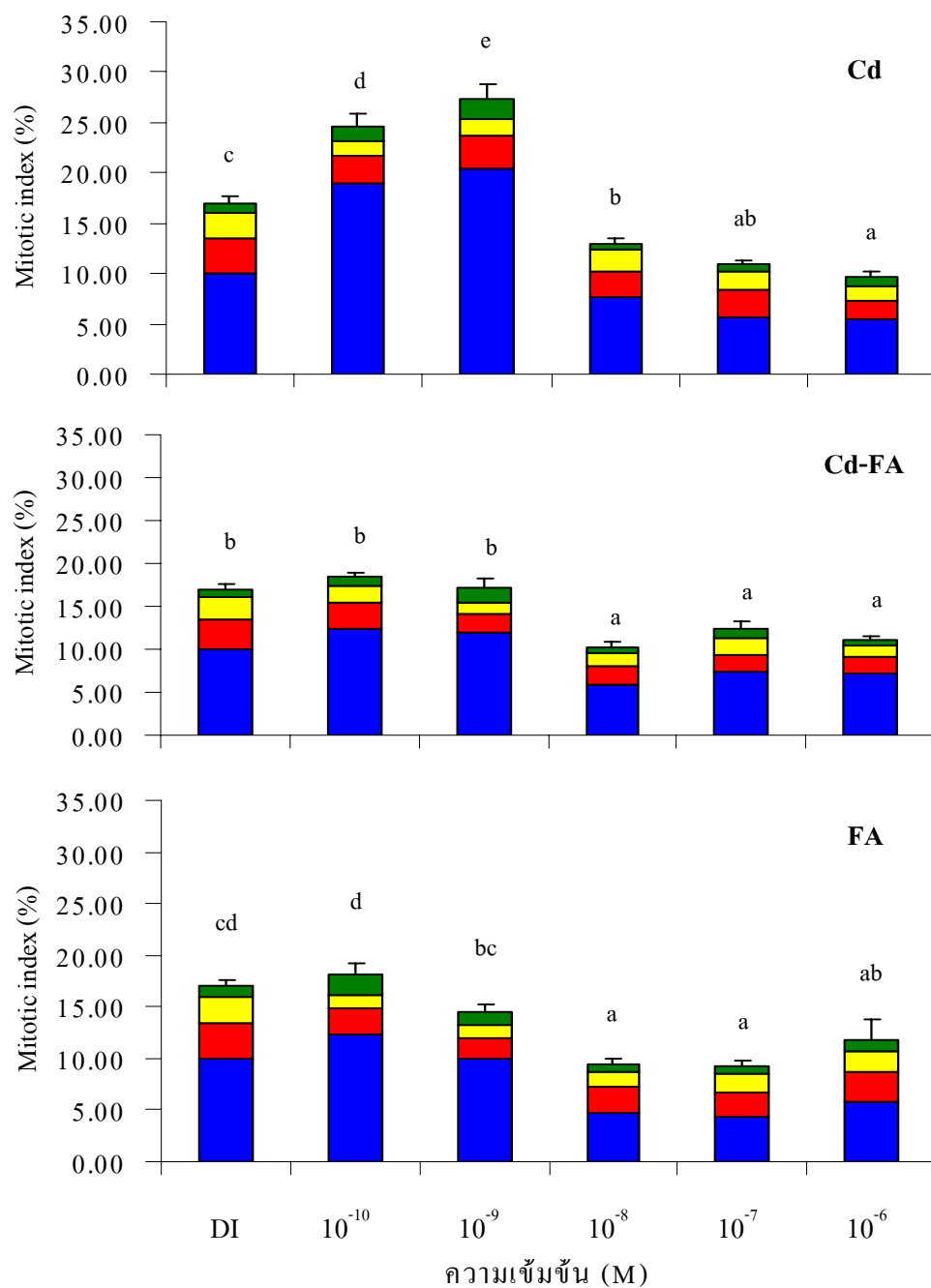
Metaphase พบว่าสารละลาย FA สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 2 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase มากที่สุดได้แก่ ชุดควบคุม DI ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase น้อยได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-9} M และ ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ในระยะนี้ได้ดังนี้ $\text{DI} > 10^{-9} \text{ M}$ สำหรับความเข้มข้น 10^{-8} และ 10^{-10} M ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ไม่แตกต่างกันทุกความเข้มข้น แต่ความเข้มข้น 10^{-7} M ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์น้อยกว่าชุดควบคุม DI และความเข้มข้น 10^{-6} M ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม DI

Anaphase พบว่าชุดควบคุม FA สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase มากที่สุดได้แก่ ชุดควบคุม DI ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} M และระดับที่ 3 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ anaphase น้อยที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-9} และ 10^{-10} M ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ในระยะนี้ได้ดังนี้ $\text{DI} > 10^{-6} \text{ M} > 10^{-9}$, 10^{-10} M สำหรับความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-8} M ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ไม่แตกต่างกันระหว่างความเข้มข้นที่ 10^{-6} , 10^{-9} และ 10^{-10} M

Telophase พบว่าชุดควบคุม FA สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ telophase ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ telophase มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ telophase รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-9} M และระดับที่ 3 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ telophase น้อยที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-8} M ซึ่งเขียนลำดับผลกระทบต่อการแบ่งเซลล์ในระยะนี้ได้ดังนี้ 10^{-10} M $>$ 10^{-9} M $>$ 10^{-7} , 10^{-8} M สำหรับความเข้มข้น 10^{-6} M และ DI ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ไม่แตกต่างจากความเข้มข้น 10^{-7} , 10^{-8} และ 10^{-9} M

จากผลรวมการแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีนในแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกัน พบว่าความเข้มข้นของสารละลาย Cd มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (รูปที่ 12) และมีความแตกต่างกัน 5 ระดับคือ ระดับที่ 1 ความเข้มข้น 10^{-9} M ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์มากที่สุดได้แก่ ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M ระดับที่ 3 ได้แก่ ชุดควบคุม DI ระดับที่ 4 ได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-8} M และระดับที่ 5 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์น้อยที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} M ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการชักนำให้เกิด MI (%) ได้ดังนี้ 10^{-9} M $>$ 10^{-10} M $>$ DI $>$ 10^{-8} M $>$ 10^{-6} M สำหรับความเข้มข้น 10^{-7} M ชักนำให้เกิด MI (%) ไม่แตกต่างกับ 10^{-6} M และ 10^{-8} M ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าสารละลาย Cd ความเข้มข้น 10^{-9} และ 10^{-10} M สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในทุกระยะสูงสุด ส่วนความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-8} M สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase และ anaphase และความเข้มข้น 10^{-6} M สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะต่าง ๆ น้อยที่สุดซึ่งมีผลมาจากความเข้มข้นของสารละลาย Cd ที่เพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้เกิดความผิดปกติต่อกระบวนการแบ่งเซลล์

จากผลรวมของการแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีนในแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกันพบว่าสารละลาย Cd-FA สามารถชักนำให้เกิด MI (%) (รูปที่ 12) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 2 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์มากกว่าได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-9} , 10^{-10} M และชุดควบคุม DI และระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์น้อยได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} และ 10^{-8} M ซึ่งสามารถลำดับผลกระทบต่อการชักนำให้เกิด MI (%) ได้ดังนี้ 10^{-9} , 10^{-10} M, DI $>$ 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าสารละลาย Cd-FA ความเข้มข้นต่ำๆ (10^{-9} , 10^{-10} M และชุดควบคุม DI) จะสามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase, metaphase, anaphase และ telophase



รูปที่ 12 ผลรวมของการชักนำให้เกิด MI แบบต่างๆ บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีนที่ทดสอบด้วย

สารละลาย Cd, Cd-FA และ FA ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

■ Bridge ■ Disturb ■ Fragment ■ Laggard

T: แสดงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error; SE)

เพิ่มมากขึ้นแต่เมื่อมีระดับความเข้มข้นสูงขึ้น (10^{-6} , 10^{-7} และ 10^{-8} M) จะทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ใน ระยะต่างๆ ลดลงเนื่องจากความระดับสารละลาย Cd-FA ที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการแบ่งเซลล์ในระยะ ต่างๆ ลดลงด้วย

จากผลรวมของการแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีนในระยะ prophase, metaphase, anaphase และ telophase ทุกความเข้มข้นมาเปรียบเทียบกันพบว่าชุดควบคุม FA สามารถชักนำให้เกิด MI (%) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความ แตกต่างกัน 2 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-8} M ซึ่งเขียน ลำดับผลกระทบต่อการชักนำให้เกิด MI (%) ได้ดังนี้ 10^{-10} M $>$ 10^{-7} , 10^{-8} M สำหรับชุดควบคุม DI สามารถชักนำให้เกิด MI (%) ไม่แตกต่างกับความเข้มข้น 10^{-10} M ความเข้มข้น 10^{-9} M สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์น้อยกว่าความเข้มข้น 10^{-10} M และความเข้มข้น 10^{-6} M ชักนำ ให้เกิด MI (%) ไม่แตกต่างกันระหว่างความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-8} M จากรูปที่ 12 จากผลการ ทดลองสามารถสรุปได้ว่าชุดควบคุม FA ความเข้มข้น 10^{-10} M สามารถชักนำให้เกิดการแบ่ง เซลล์ในระยะ prophase, metaphase, anaphase และ telophase สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับทุกความ เข้มข้นซึ่งสามารถชี้ให้เห็นว่าชุดควบคุม FA เพียงอย่างเดียวก็สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ ในระยะต่างๆ สูงขึ้น

2. ผลการทดสอบสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA สามารถชักนำให้เกิด MA (%) บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน

เมื่อทดสอบสารละลาย Cd เพื่อตรวจสอบลักษณะความผิดปกติของสาร พันธุกรรมบริเวณปลายรากของผักบุ้งจีนพบว่าความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M และชุด ควบคุม DI สามารถชักนำให้เกิด MA (%) ซึ่งแสดงผลการทดลองดังรูปที่ 13

Chromosome bridge ความเข้มข้นของสารละลาย Cd มีผลต่อการเกิด chromosome bridge แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 2 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ chromosome bridge มากกว่าได้แก่ ความ เข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} และ 10^{-8} M และระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ chromosome bridge น้อยได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M และชุดควบคุม DI ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการชัก นำให้เกิดความผิดปกติได้ดังนี้ 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} M $>$ 10^{-10} M, DI สำหรับความเข้มข้น 10^{-9} M มีชัก นำให้เกิดความผิดปกติไม่แตกต่างกับกลุ่มที่มีความผิดปกติระดับที่ 1 และระดับที่ 2

Disturb chromosome พบว่าความเข้มข้นของสารละลาย Cd สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของ disturb chromosome ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ disturb chromosome มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-8} M ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ disturb chromosome รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} และระดับที่ 3 ได้แก่ ชุดควบคุม DI และ 10^{-9} M ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการชักนำให้เกิดความผิดปกติได้ดังนี้ $10^{-7}, 10^{-8} \text{ M} > 10^{-6} \text{ M} > \text{DI}$ สำหรับความเข้มข้น 10^{-9} M ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ไม่แตกต่างกับ 10^{-6} M ส่วนความเข้มข้นที่ 10^{-10} M สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติในระยะนี้ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม DI

Fragment chromosome พบว่าสารละลาย Cd ความเข้มข้น $10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10}$ M และชุดควบคุม DI สามารถชักนำให้เกิด fragment chromosome ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

Laggard chromosome พบว่าสารละลาย Cd สามารถชักนำให้เกิด laggard chromosome ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ความเข้มข้น 10^{-6} และ 10^{-7} M และความเข้มข้นที่ 10^{-10} M และชุดควบคุม DI ตรวจไม่พบ laggard chromosome

เมื่อทดสอบสารละลาย Cd-FA เพื่อตรวจสอบลักษณะความผิดปกติของสารพันธุกรรมบริเวณปลายรากของผักบุ้งจีนพบว่าสารละลาย Cd-FA สามารถชักนำให้เกิด MA (%) แสดงผลการทดลองดังรูปที่ 13

Chromosome bridge สารละลาย Cd-FA สามารถชักนำให้เกิด chromosome bridge มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 2 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ chromosome bridge มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-8} M ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ chromosome bridge น้อยได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการชักนำให้เกิดความผิดปกติได้ดังนี้ $10^{-8} \text{ M} > 10^{-10} \text{ M}$ สำหรับความเข้มข้น 10^{-6} M, DI, 10^{-9} M สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติไม่แตกต่างจากความเข้มข้น $10^{-7}, 10^{-8}$ และ 10^{-10} M

Disturb chromosome พบว่าสารละลาย Cd-FA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีความแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ disturb chromosome มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} และ 10^{-7} M ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ disturb chromosome รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-8} M และระดับ

ที่ 3 ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ disturb chromosome น้อยที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M และชุดควบคุม DI ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบการชักนำให้เกิดความผิดปกติได้ดังนี้ 10^{-6} , 10^{-7} M > 10^{-8} M > 10^{-10} M, DI สำหรับความเข้มข้น 10^{-9} M สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติไม่แตกต่างกับความเข้มข้น 10^{-8} และ 10^{-10} M

Fragment chromosome พบว่าสารละลาย Cd-FA ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M และชุดควบคุม DI สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของ fragment chromosome ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนที่ความเข้มข้น 10^{-6} และ 10^{-7} M ตรวจไม่พบ fragment chromosome ซึ่งทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเกิด fragment chromosome เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

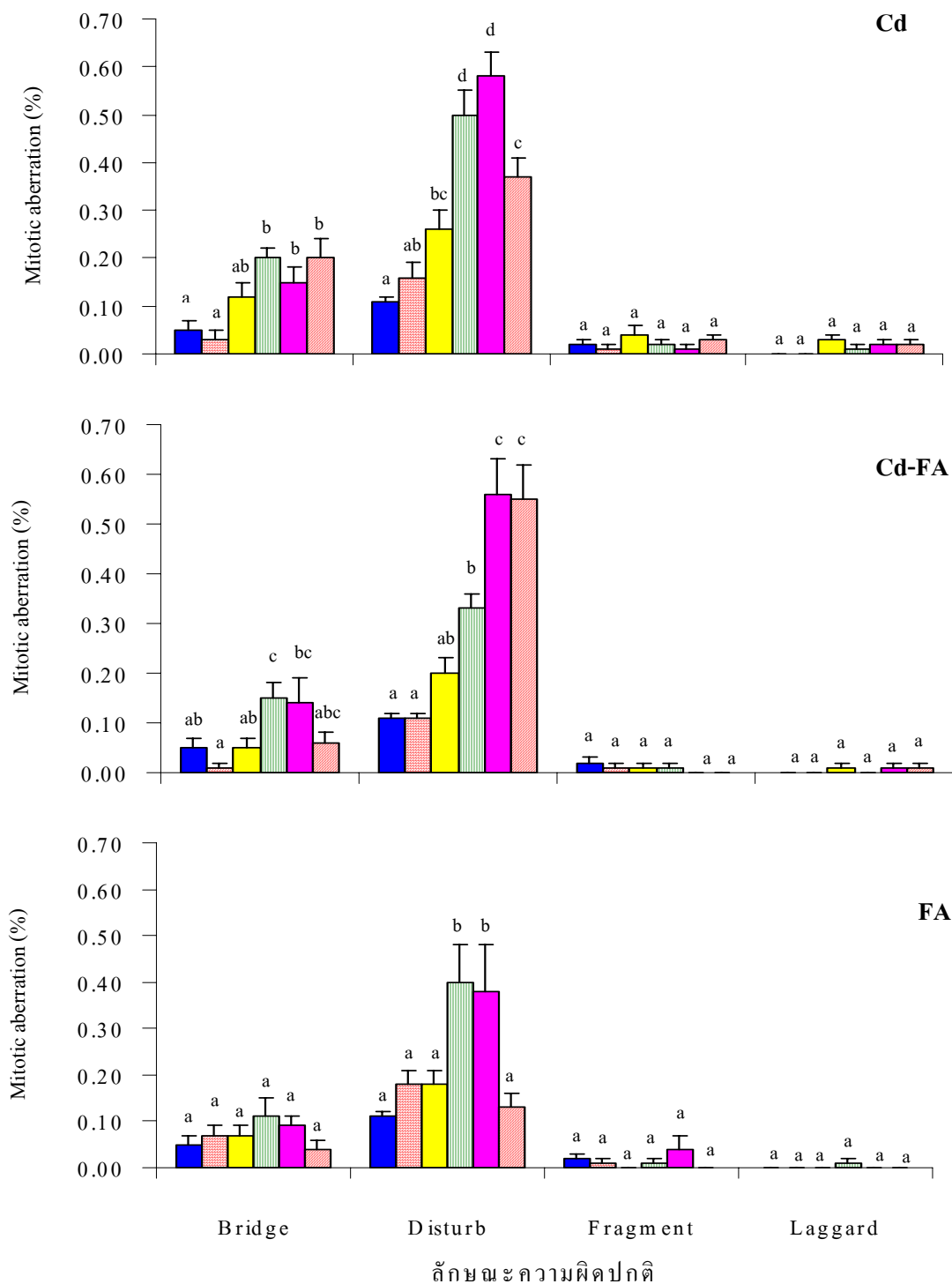
Laggard chromosome พบว่าสารละลาย Cd-FA สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของ laggard chromosome ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และความเข้มข้น 10^{-8} , 10^{-10} M และ DI ตรวจไม่พบ laggard chromosome ซึ่งทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเกิด laggard chromosome เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

เมื่อทดสอบสารละลาย FA มีผลต่อสารพันธุกรรมบริเวณปลายรากของผักบุ้งจีนพบว่าสารละลาย FA สามารถชักนำให้เกิด MA (%) แสดงผลในรูปที่ 13

Chromosome bridge สารละลาย FA ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M และชุดควบคุม DI สามารถชักนำให้เกิด chromosome bridge ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

Disturb chromosome พบว่าชุดควบคุม FA สามารถชักนำให้เกิด disturb chromosome ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และมีแตกต่างกัน 2 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ disturb chromosome มากกว่าได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-8} M และระดับที่ 2 ชักนำให้เกิดความผิดปกติของ disturb chromosome มากได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-9} , 10^{-10} M และชุดควบคุม DI ซึ่งเขียนลำดับผลกระทบต่อการชักนำให้เกิดความผิดปกติได้ดังนี้ 10^{-7} , 10^{-8} M > 10^{-6} , 10^{-9} , 10^{-10} M, DI

Fragment chromosome พบว่าสารละลาย FA สามารถชักนำให้เกิด fragment chromosome ความเข้มข้น 10^{-8} และ 10^{-10} M และชุดควบคุม DI และความเข้มข้น 10^{-6} และ 10^{-9} M ตรวจไม่พบ fragment chromosome จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าทุกความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI



รูปที่ 13 ผลของสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MA บริเวณปลายรากของผักบ่งจิ้นเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

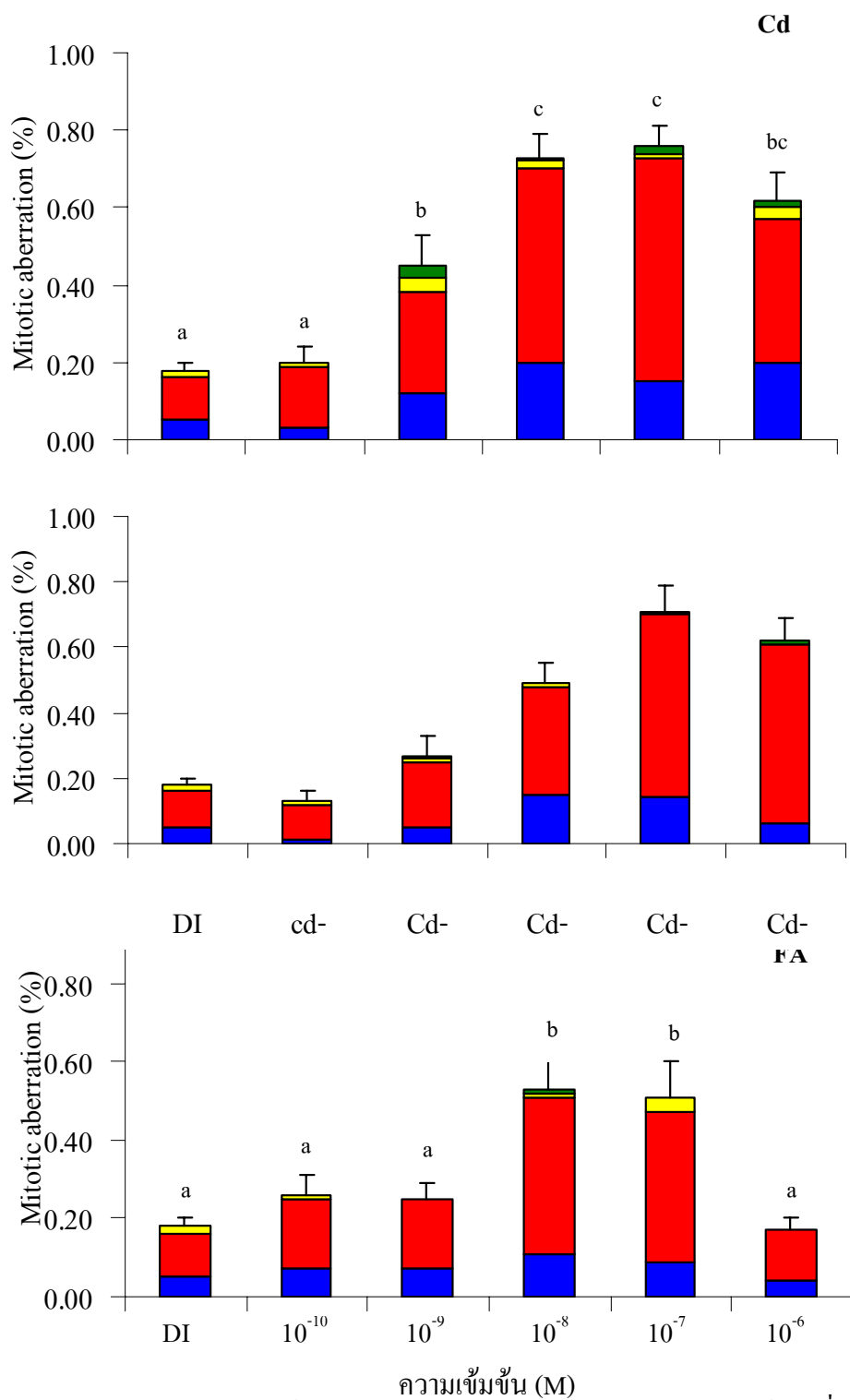
■ DI ▨ 10⁻¹⁰ M ■ 10⁻⁹ M ▤ 10⁻⁸ M ■ 10⁻⁷ M ▩ 10⁻⁶ M

T: แสดงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error; SE)

Laggard chromosome พบว่าสารละลาย FA สามารถชักนำให้เกิด laggard chromosome ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-9} , 10^{-10} M และชุดควบคุม DI ตรวจไม่พบ laggard chromosome

จากผลรวมการเกิดความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมบริเวณปลายรากของงู้งิน เช่น chromosome bridge, disturb chromosome, fragment chromosome และ laggard chromosome ในแต่ละความเข้มข้นมาเปรียบเทียบกันพบว่าสารละลาย Cd สามารถชักนำให้เกิด MA (%) (รูปที่ 14) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และมีความแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิด MA (%) มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-8} M ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิด MA (%) รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-9} M และระดับที่ 3 ชักนำให้เกิด MA (%) มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-10} M และชุดควบคุม DI ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการชักนำให้เกิดความผิดปกติได้ดังนี้ $10^{-7}, 10^{-8} M > 10^{-9} M > 10^{-10} M$, DI สำหรับความเข้มข้น 10^{-6} M สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติไม่แตกต่างจากความเข้มข้น 10^{-9} M และ 10^{-7} และ 10^{-8} M จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าสารละลาย Cd ความเข้มข้นต่ำๆ (10^{-9} M) สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากของงู้งินในระยะ prophase, metaphase, anaphase และ telophase ส่วนสารละลาย Cd ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} และ 10^{-8} M สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของ chromosome bridge และ disturb chromosome โดยระดับความเข้มข้นที่ทำให้เกิดความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมนี้อยู่ในช่วงค่ามาตรฐานน้ำผิวดินของประเทศไทย 4.4×10^{-8} - 4.4×10^{-7} M แสดงให้เห็นว่าถึงแม้ยังไม่เกินค่ามาตรฐานก็ก่อให้เกิดความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมได้

จากผลรวมของการเกิดความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมบริเวณปลายรากของงู้งินในแต่ละความเข้มข้นเปรียบเทียบกันพบว่าสารละลาย Cd-FA สามารถชักนำให้เกิด MA (%) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และมีความแตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิด MA (%) มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-7} M ระดับที่ 2 ชักนำให้เกิด MA (%) รองลงมาได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-8} M และระดับที่ 3 ชักนำให้เกิด MA (%) มากที่สุดได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-9} , 10^{-10} M และชุดควบคุม DI ซึ่งสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการชักนำให้เกิดความผิดปกติได้ดังนี้ $10^{-7} M > 10^{-8} M > 10^{-9}, 10^{-10} M$, DI สำหรับความเข้มข้น 10^{-6} M สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติไม่แตกต่างกับ 10^{-7} M และ 10^{-8} M ดังรูปที่ 14 จากผลการทดสอบสารละลาย Cd-FA สามารถสรุปได้ว่าความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} และ 10^{-8} M สามารถชักนำให้เกิด chromosome bridge สูงสุดส่วนความเข้มข้น 10^{-6} และ 10^{-7} M สามารถชักนำให้เกิด disturb chromosome



รูปที่ 14 ผลรวมของการชักนำให้เกิด MA แบบต่างๆ บริเวณปลายรากของผักบั้งเงินที่ทดสอบด้วยสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA ความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

■ Bridge ■ Disturb ■ Fragment ■ Laggard

T : แสดงค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error; SE)

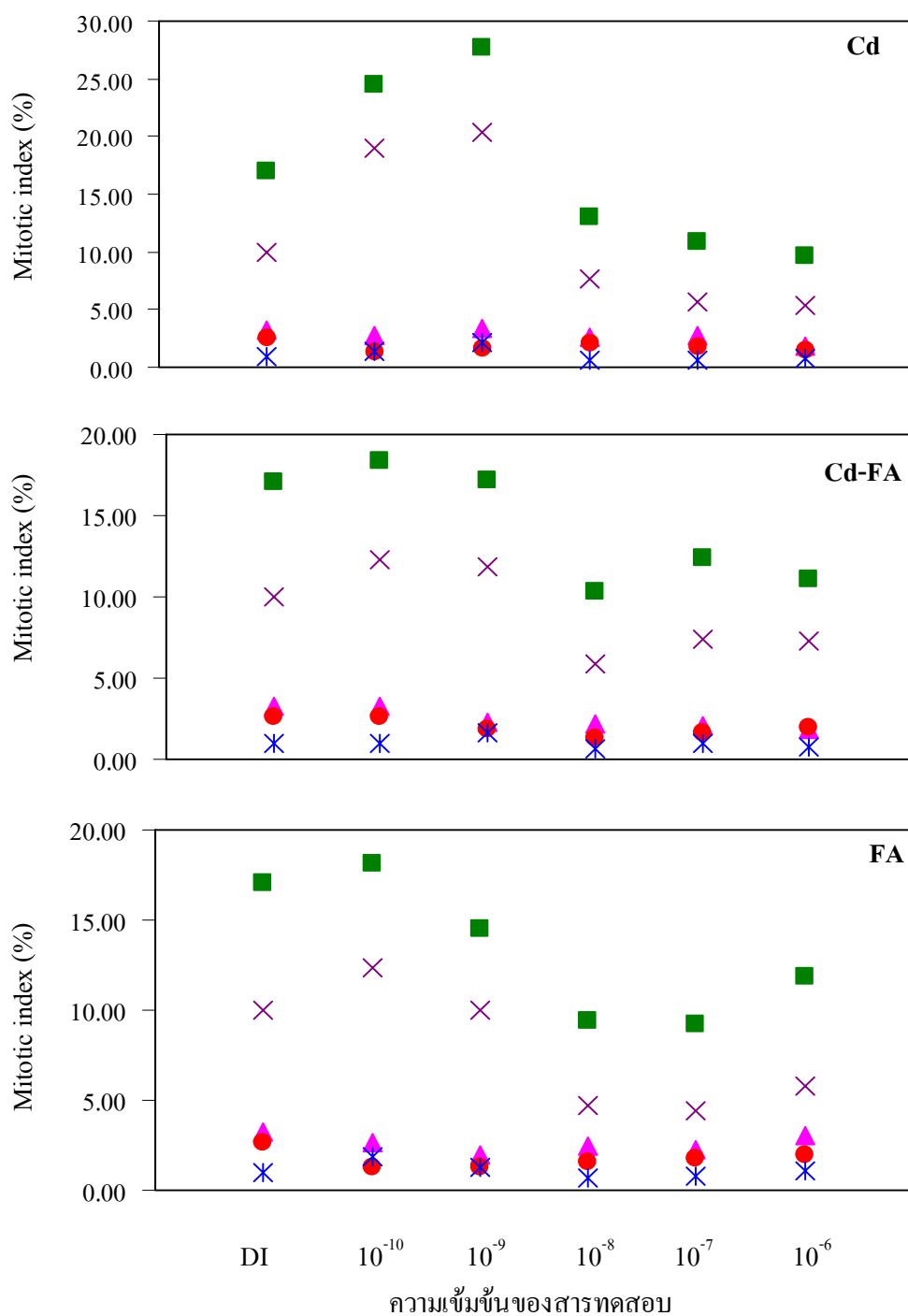
chromosome สูงสุดและ Cd-FA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของ fragment chromosome และ laggard chromosome ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

จากผลรวมของการเกิดลักษณะความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมบริเวณปลายรากของผักบั้งจีนเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลาย FA สามารถชักนำให้เกิด MA (%) และมีความแตกต่างกัน 2 ระดับคือ ระดับที่ 1 ชักนำให้เกิด MA (%) มากกว่าได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-8} M และระดับที่ 2 ชักนำให้เกิด MA (%) น้อยได้แก่ ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-9} , 10^{-10} M และชุดควบคุม DI ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และสามารถเขียนลำดับผลกระทบต่อการชักนำให้เกิดความผิดปกติได้ดังนี้ 10^{-7} , 10^{-8} M $>$ 10^{-6} , 10^{-9} , 10^{-10} M, DI ดังรูปที่ 14 ผลจากการทดสอบของสารละลาย FA สามารถสรุปได้ว่าความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-8} M สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของ disturb chromosome ในบริเวณปลายรากของผักบั้งจีนสูงสุด เนื่องจากคุณสมบัติของสารละลาย FA ที่มีอยู่ตามธรรมชาติและสารละลาย FA ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจึงสามารถเคลื่อนย้ายสารอาหารสู่ส่วนของรากได้มากขึ้นจึงทำให้บริเวณปลายรากของผักบั้งจีนสามารถดูดซับสารอาหารเข้าสู่รากได้ดีขึ้น (ยงยุทธ, 2549; Rauthan and Schmitzer, 1981)

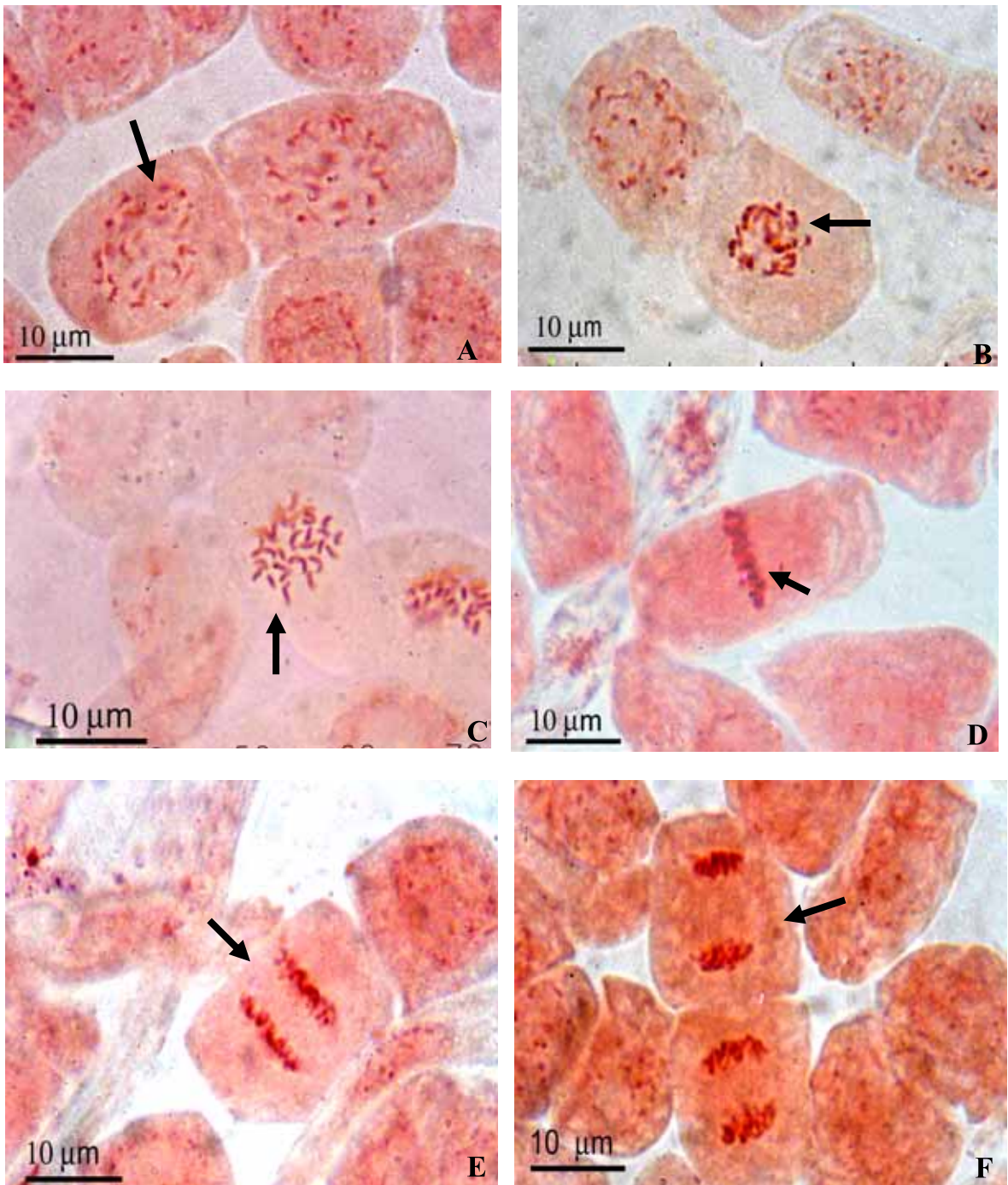
การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd, Cd-FA กับชุดควบคุม 2 แบบ (ได้แก่ DI และ FA) สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์บริเวณปลายรากของผักบั้งจีนในระยะต่างๆ

จากการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd สามารถชักนำให้เกิด MI (%) พบว่าสารละลาย Cd ความเข้มข้นต่ำๆ จะสามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในทุกระยะเพิ่มขึ้นแต่เมื่อใช้สารละลาย Cd ความเข้มข้นสูงขึ้นจะทำให้มีการแบ่งเซลล์ในทุกระยะลดลงซึ่งมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน (รูปที่ 15)

จากการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd-FA สามารถชักนำให้เกิด MI (%) พบว่าความเข้มข้นต่ำๆ จะทำให้เกิดการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นแต่เมื่อใช้สารละลาย Cd-FA ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะทำให้การแบ่งเซลล์ในระยะต่างๆลดลงซึ่งมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน



รูปที่ 15 การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd, Cd-FA และชุดควบคุม FA ต่อความถี่ในการเกิด MI บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน



รูปที่ 16 การแบ่งเซลล์ในระยะเวลาต่างๆบริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน (A) Interphase, (B) Prophase, (C-D) Metaphase, (E) Anaphase, (F) Telophase

การศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของชุดควบคุม FA สามารถชักนำให้เกิด MI (%) พบว่าชุดควบคุม FA ความเข้มข้นต่ำๆ จะทำให้การแบ่งเซลล์ในระยะต่างๆ เพิ่มขึ้น แต่เมื่อใช้ชุดควบคุม FA ที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ metaphase และ anaphase เพิ่มขึ้นซึ่งจะสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นด้วย

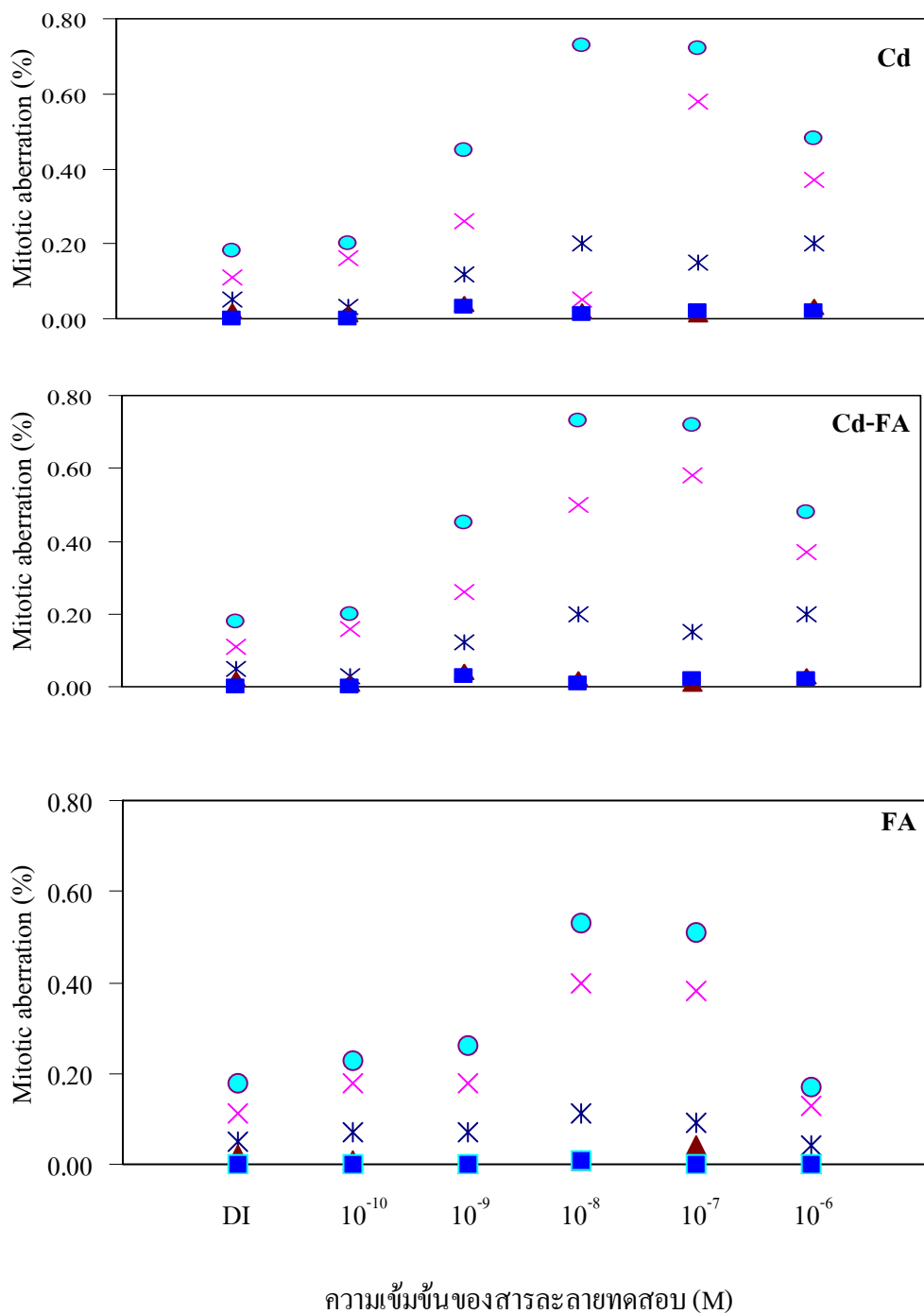
จากการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายทดสอบ ทั้งสามชนิดกับการชักนำให้เกิด MI (%) สามารถสรุปได้ว่าสารละลาย Cd, Cd-FA และชุดควบคุม FA ที่มีความเข้มข้นต่ำๆ จะสามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะต่างๆ เพิ่มขึ้น แต่เมื่อมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะสามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะต่างๆ ลดลงซึ่งสารละลายทั้งสามชนิดมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันดังรูปที่ 16

การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของของสารละลาย Cd, Cd-FA กับชุดควบคุม DI และ FA สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของสารพันธุกรรมบริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน

จากการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd กับการชักนำให้เกิด MA (%) พบว่าสารละลาย Cd ความเข้มข้นสูงๆ จะสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติเพิ่มขึ้นแต่เมื่อทดสอบกับสารละลาย Cd ความเข้มข้นต่ำๆ จะสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติลดลงซึ่งมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงกันข้ามกับการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์เมื่อใช้สารละลาย Cd ความเข้มข้นต่ำๆ (รูปที่ 17)

จากการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd-FA กับการชักนำให้เกิด MA (%) พบว่าสารละลาย Cd-FA ความเข้มข้นสูงๆ จะสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติเพิ่มขึ้นแต่เมื่อทดสอบกับสารละลาย Cd-FA ความเข้มข้นต่ำๆ จะสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติลดลงซึ่งมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงกันข้ามกับการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์เมื่อใช้สารละลาย Cd-FA ที่ความเข้มข้นต่ำๆ

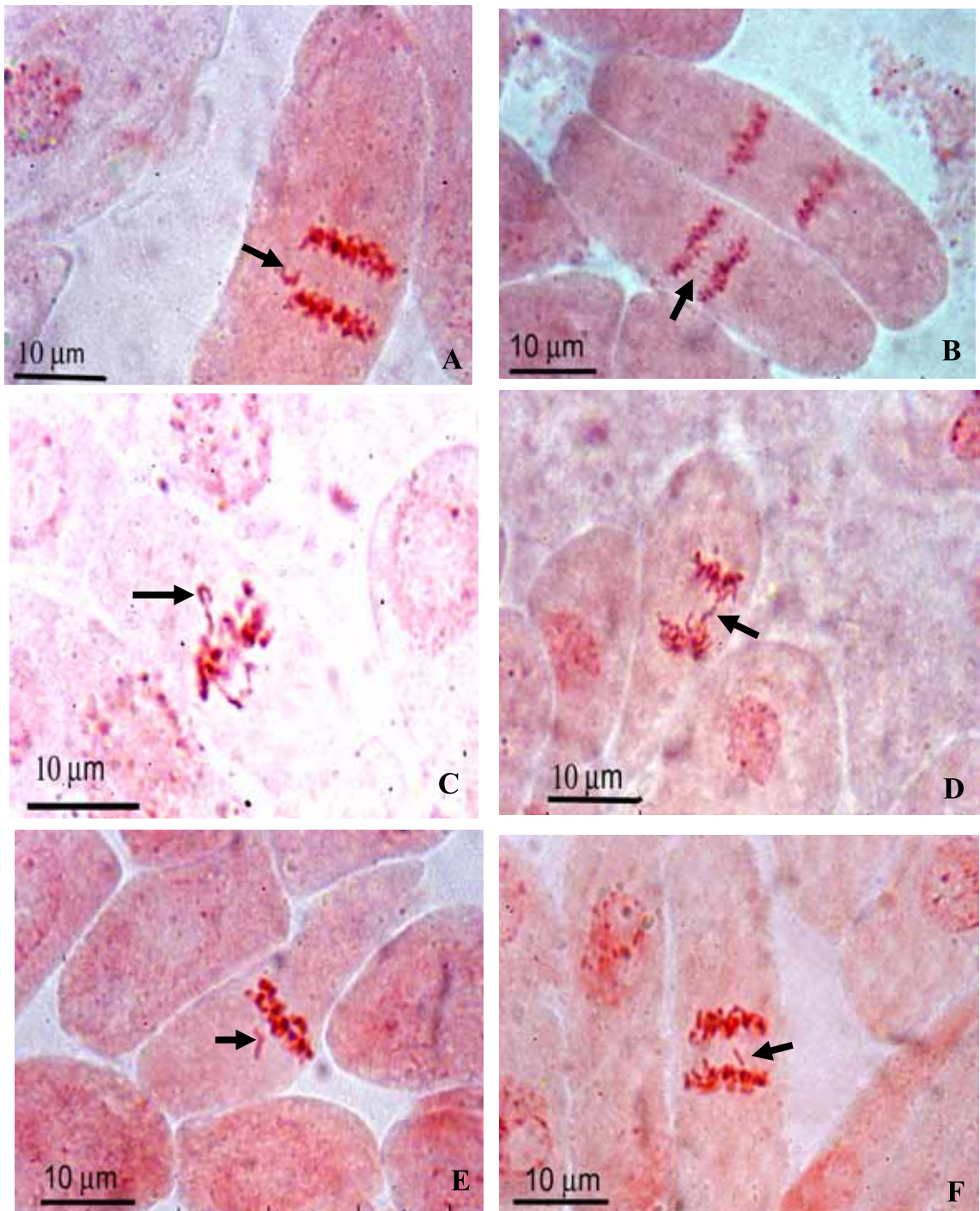
จากการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของชุดควบคุม FA กับการชักนำให้เกิด MA (%) พบว่าชุดควบคุม FA ความเข้มข้นสูงๆ จะสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติเพิ่มขึ้นแต่เมื่อทดสอบกับชุดควบคุม FA ความเข้มข้นต่ำๆ จะสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติลดลงซึ่งมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกับการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์เมื่อใช้ชุดควบคุม FA



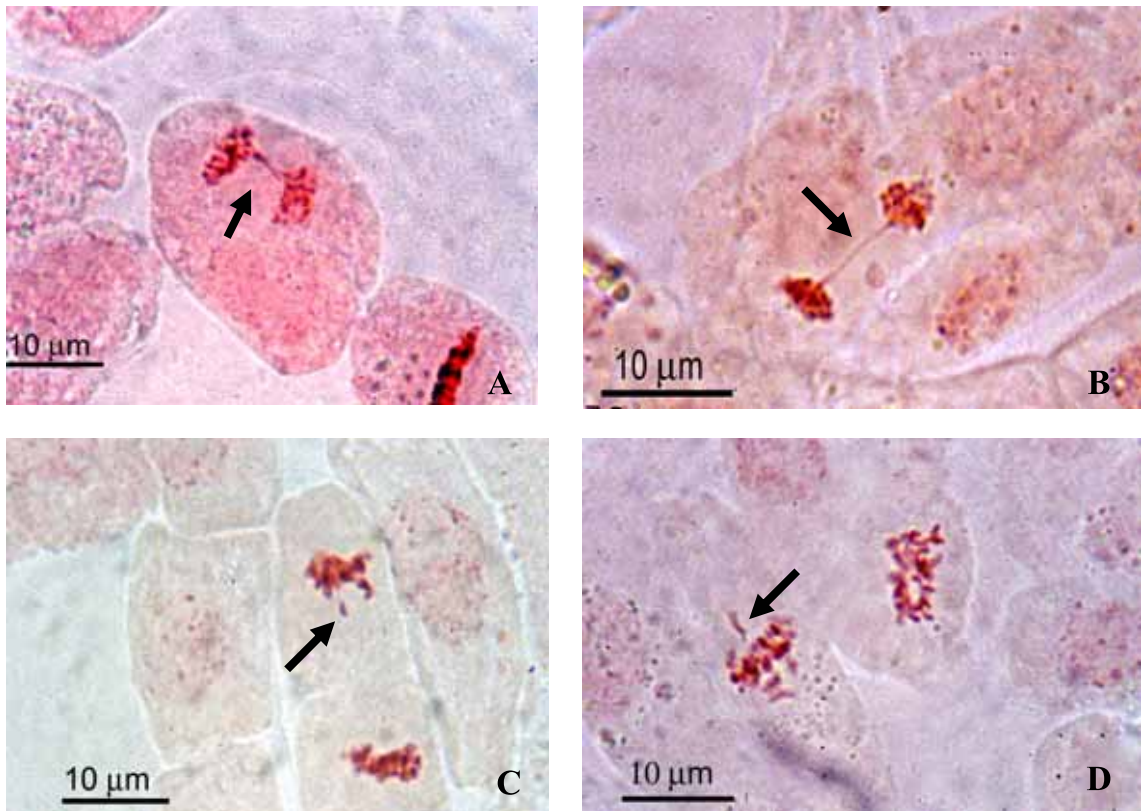
รูปที่ 17 การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd, Cd-FA และชุดควบคุม FA ต่อความถี่ในการเกิด MA บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน

จากการศึกษาพบว่าสารละลาย Cd ความเข้มข้นสูงขึ้นไปสามารถชักนำให้เกิด MA (%) เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกันกับการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์จะลดลงเมื่อมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะสังเกตเห็นว่ามีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงกันข้าม และการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของสารละลาย Cd-FA พบว่าความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของ chromosome bridge, disturb chromosome และ laggard chromosome เพิ่มขึ้น ยกเว้นความผิดปกติของ fragment chromosome มีความสัมพันธ์ลดลง ส่วนการศึกษาชุดควบคุม FA พบว่าความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของ chromosome bridge, disturb chromosome และ laggard chromosome เพิ่มขึ้น ยกเว้นความผิดปกติของ fragment chromosome ลดลง

จากการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Cd, Cd-FA และชุดควบคุม FA กับการชักนำให้เกิดความผิดปกติของสารพันธุกรรมสามารถสรุปได้ว่าสารละลาย Cd, Cd-FA และชุดควบคุม FA มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะสามารถชักนำให้เกิด MA (%) เพิ่มขึ้นด้วย แต่เมื่อความเข้มข้นของสารละลาย Cd, Cd-FA และชุดควบคุม FA ลดลงจะสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของ chromosome bridge, disturb chromosome, fragment chromosome และ laggard chromosome ลดลง ซึ่งความผิดปกติที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันดังรูปที่ 18 และ 19



รูปที่ 18 ลักษณะความผิดปกติทางพันธุกรรมบริเวณปลายรากของฝักบัวจีน (A) lagging chromosome ในระยะ anaphase, (B) disturb chromosome ในระยะ anaphase, (C) disturb chromosome ในระยะ metaphase, (D) chromosome ในระยะ anaphase, (E) laggard chromosome ในระยะ metaphase, (F) fragment chromosome ในระยะ anaphase



รูปที่ 19 ลักษณะความผิดปกติทางพันธุกรรมบริเวณปลายรากของผักนึ่งจีน (A-B) disturb chromosome ในระยะ telophase, (C) fragmented chromosome ในระยะ telophase, (D) disturb chromosome ในระยะ metaphase

บทที่ 6

อภิปรายผลการทดลอง

การทดลองใช้เซลล์บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีนประเมินความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของสารละลาย Cd, Cd-FA และชุดควบคุม DI และ FA ความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} และ 10^{-10} M เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมา recover ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยศึกษาผลกระทบของ Cd, Cd-FA และ FA ด้วยเทคนิคการตรวจสอบการแบ่งเซลล์ MI และความผิดปกติของสารพันธุกรรม MA พบว่าสารทั้งสามชนิดให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการศึกษาผลกระทบของ Cd และ Cd-FA ความเข้มข้นต่ำ ๆ ได้แก่ 10^{-9} M และ 10^{-10} M มีแนวโน้มทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในระยะ prophase metaphase anaphase และ telophase มากขึ้นโดยพิจารณาจากค่า MI ที่มีค่ามากขึ้น(ตารางที่ 10) และความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมที่ศึกษาจากลักษณะความผิดปกติของโครโมโซมที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ปลายราก เช่น bridge disturb laggard และ fragment มีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการทดลองที่ความเข้มข้นสูงขึ้น โดยพิจารณาจากค่า MA เมื่อเทียบกับการทดสอบกับ FA พบว่ามีเพียงระดับความเข้มข้น 10^{-10} M เพียงความเข้มข้นเดียวเท่านั้นที่ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์เพิ่มมากขึ้นและเกิดความผิดปกติน้อยกว่า ทั้งนี้ปริมาณ FA ที่มากเกินไปก็อาจไม่เป็นประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิต เช่นเดียวกับการศึกษาของ Rauthan and Schnitzer (1981) ที่พบว่า FA ความเข้มข้นสูง ๆ จะไม่เป็นประโยชน์ต่อแสงกว่า แต่ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ ทำให้แสงมีการเจริญเติบโตมากยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับ Cd และ Cd-FA แล้วจะเห็นว่า Cd และ Cd-FA จะกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ได้มากกว่า ซึ่งพิจารณาในลักษณะของความเป็นจุลธาตุอาหารแล้ว Cd จะไปกระตุ้นการเติบโตของพืชที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ๆ (Jiang *et al.*, 2001) อย่างไรก็ตามความแตกต่างของการทดสอบกับสิ่งมีชีวิตย่อมขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ระดับความเข้มข้นของสารทดสอบ ชนิดของสารทดสอบ และชนิดของสิ่งมีชีวิตตลอดจนสถานะที่ทดสอบเป็นต้น สำหรับการทดลองนี้เป็นการทดสอบแบบ hypotonic ระดับความเข้มข้นที่มีต่อสารพันธุกรรมของผักบุ้งจีนจึงมีค่าต่ำกว่าการทดสอบที่ใช้ดินและกับพืชชนิดอื่นข้างต้น

การศึกษาสารละลายทดสอบสามชนิดต่อสารพันธุกรรมบริเวณปลายรากของผักบุ้งจีนโดยพิจารณาจากลักษณะความผิดปกติของโครโมโซม เช่น bridge, disturb, fragment และ laggard

พบว่าสารละลาย Cd และ Cd-FA ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} และ 10^{-9} M ทำให้เกิดความผิดปกติมากที่สุด แต่ในการทดสอบกับสารละลาย FA ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-7} และ 10^{-8} M ทำให้เกิดความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมได้ในระดับปานกลาง Cd โดยทั่วไปเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ (Chugh and Sawhney, 1996; Jiang *et al.*, 2001; Marcano *et al.*, 2002; Meie and Zhou, 2005 and Zhang and Xiao, 1998) ในการทดลองนี้ Cd มีความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมที่ความเข้มข้นช่วง 10^{-9} M ขึ้นไป (ตารางที่ 11) การมี FA ในระบบช่วยให้พิษของ Cd ลดลง เนื่องจาก FA เป็นสารชีวโมเลกุลชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติในการจับกับโลหะได้ดี (Frost *et al.*, 2003; Knauer and Buffle, 2001 and Koukal *et al.*, 2003) รูปแบบของ Cd ในที่นี้ ได้แก่ Cd ไอออนจะมีน้อยลง และยังทำให้มีผลต่อการเติบโตของพืชและส่งผลต่อการทำงานของสารพันธุกรรมซึ่งสามารถสังเกตได้จากการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นของผักบุ้งจีน

จากการทดลองเมื่อนำค่า MI และ MA ที่ได้จากการแบ่งเซลล์ในแต่ละความเข้มข้นของสารแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบกันพบว่าความเข้มข้นต่ำ ๆ สามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์มากที่สุด และความเข้มข้นสูงขึ้นก็จะทำให้เกิดความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมมากขึ้น สามารถเรียงลำดับการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ของสารละลายทดสอบทั้งหมดได้ดังนี้ $FA > Cd-FA > Cd$ และลำดับความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมของสารแต่ละชนิดเป็น $Cd > Cd-FA > FA$ นอกจากนี้การศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่าสามารถนำผักบุ้งจีนมาประยุกต์ในการตรวจสอบความผิดปกติต่อสารพันธุกรรมในแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนของสารมลพิษที่มีปริมาณต่ำๆ ได้เป็นอย่างดีเนื่องจากผักบุ้งจีนพืชที่มีความไวต่อการตอบสนองของสารมลพิษและยังเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในแหล่งน้ำ โดยเฉพาะมีความไวที่อยู่ในช่วงของค่ามาตรฐานน้ำผิวดินที่ยอมให้มี Cd 0.005 mg/L น้ำที่มีความกระด้างในรูปของ $CaCO_3$ ไม่เกินกว่า 100 mg/L และ 0.05 mg/L น้ำที่มีความกระด้างในรูปของ $CaCO_3$ เกินกว่า 100 mg/L (กรมควบคุมมลพิษ, 2541) ซึ่งเหมาะแก่การติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำที่มีการปนเปื้อนเกินค่ามาตรฐานได้เป็นอย่างดี

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA ที่สามารถชักนำให้เกิด MI บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน

concentration	Mitotic index					concentration	Mitotic index					concentration	Mitotic index				
	pro	meta	ana	telo	total		pro	meta	ana	telo	total		pro	meta	ana	telo	total
DI	■	■	■	■	■	DI	■	■	■	■	■	DI	■	■	■	■	■
Cd 10 ⁻¹⁰ M	■	■	□	■	■	Cd-FA 10 ⁻¹⁰ M	■	■	■	■	■	FA10 ⁻¹⁰ M	■	■	□	■	■
Cd 10 ⁻⁹ M	■	■	■	■	□	Cd-FA 10 ⁻⁹ M	■	■	□	■	■	FA 10 ⁻⁹ M	■	□	□	■	■
Cd 10 ⁻⁸ M	□	■	■	□	■	Cd-FA 10 ⁻⁸ M	□	■	□	■	■	FA10 ⁻⁸ M	□	■	■	□	□
Cd 10 ⁻⁷ M	□	■	■	□	■	Cd-FA 10 ⁻⁷ M	□	■	■	■	■	FA 10 ⁻⁷ M	□	□	■	□	□
Cd 10 ⁻⁶ M	□	□	■	□	■	Cd-FA 10 ⁻⁶ M	□	■	■	■	■	FA10 ⁻⁶ M	□	■	■	■	■

หมายเหตุ: สีน้ำเงินเข้มแสดงการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์มากถึงมากที่สุด (เป็นพืชน้อยที่สุด) สีเขียวแสดงถึงสามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ปานกลาง และสีขาวแสดงถึงสามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์น้อย

■ มากถึงมากที่สุด ■ ปานกลางถึงค่อนข้างน้อย □ น้อยที่สุด

ตารางที่ 11 ผลการทดสอบสารละลาย Cd, Cd-FA และ FA ที่สามารถชักนำให้เกิด MA บริเวณปลายรากของผักบุ้งจีน

concentration	Mitotic aberration					concentration	Mitotic aberration					concentration	Mitotic aberration				
	bridg	distur	fragme	laggard	tota		bridg	distur	fragme	laggard	total		bridg	distur	fragmen	laggar	total
DI	□	□	□	□	□	DI	□	□	□	□	□	DI	□	□	□	□	□
Cd 10 ⁻¹⁰ M	□	■	□	□	□	Cd-FA 10 ⁻¹⁰ M	□	□	□	□	□	FA10 ⁻¹⁰ M	□	□	□	□	□
Cd 10 ⁻⁹ M	■	■	□	□	■	Cd-FA 10 ⁻⁹ M	■	■	□	□	□	FA 10 ⁻⁹ M	□	□	□	□	□
Cd 10 ⁻⁸ M	■	■	□	□	■	Cd-FA 10 ⁻⁸ M	■	■	□	□	■	FA10 ⁻⁸ M	□	■	□	□	■
Cd 10 ⁻⁷ M	■	■	□	□	■	Cd-FA 10 ⁻⁷ M	■	■	□	□	■	FA 10 ⁻⁷ M	□	■	□	□	■
Cd 10 ⁻⁶ M	■	■	□	□	■	Cd-FA 10 ⁻⁶ M	■	■	□	□	■	FA10 ⁻⁶ M	□	□	□	□	□

หมายเหตุ: สีน้ำเงินเข้มแสดงการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์มากถึงมากที่สุด (เป็นพืชน้อยที่สุด) สีเขียวแสดงถึงสามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ปานกลาง และสีขาวแสดงถึงสามารถชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์น้อย

■ มากถึงมากที่สุด ■ ปานกลางถึงค่อนข้างน้อย □ น้อยที่สุด

บรรณานุกรม

กรมควบคุมมลพิษ.2541. แคลเมียม. บริษัท อินทิเกรตเต็ด โพรโมชัน เทคโนโลยี จำกัด. กรุงเทพฯ .
กรมควบคุมมลพิษ.2550. มาตรฐานคุณภาพน้ำ. แหล่งที่มา:

http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water01.html. 28 มีนาคม 2550.

เฉลิมเกียรติ โภคาวัฒนา และ ภัสรา ชวประดิษฐ์. 2539. ผักบั้งจีน. แหล่งที่มา:

<http://www.thaigoodview.com/library/teachershow/poonsak/agri/tree/sec02p02.html>.

1 มิถุนายน 2549.

ทวีลักษณ์ อุ่นองอาจ และ กฤตย์ สมสาร. 2548. กรดฮิวมิก.แหล่งที่มา:

http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/cp_1_2548_humic_acid.pdf, 13 สิงหาคม 2549.

นัทธีรา สรรมณี. 2539.เคมีสิ่งแวดล้อม. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม 196 หน้า

นัทธีรา สรรมณี. 2541. โลหะในแหล่งน้ำ. ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร. พิมพ์ครั้งที่ 1. นครปฐม.

_____ วรางคณา รักทองสุข และ ปวรีน สุวรรณอินทร์. 2548. จลนศาสตร์ของ สารประกอบเชิงซ้อนอินทรีย์ทองแดงและแคลเมียมที่ถูกแย่งจับด้วยลิแกนด์คีเลต Chelex-100. การประชุมทางวิชาการ “สิ่งแวดล้อมนเรศวร” ครั้งที่ 1.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2546. พันธุศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 3. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ไมตรี สุทธิจิตต์.2531.สารพิษรอบตัวเรา. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ดาว คอมพิวเตอร์กราฟฟิค, เชียงใหม่.

ศุภมาส พนิชศักดิ์พัฒนา. 2540. ภาวะมลพิษของดินจากการใช้สารเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วรรณภา เสนาดิ. 2548. “ผักบั้ง.” วารสารเคหการเกษตร.25,5 (พฤษภาคม 2548) : 173-180.

วิทยา พงษ์มาลา. 2549. “โครงสร้างของพืชมีดอก” เอกสารประกอบคำบรรยาย ชีววิทยาทั่วไป 2. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.

อภิชาติ ศรีสะอาด. 2543. ผักสวนครัว&ผักพื้นบ้าน.บริษัท ก.พล (1996) จำกัด, กรุงเทพฯ.

อักษร ศรีเปล่ง, พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์, พัชรี สุนทรนนท์ และ สาวิตรี ลิ้มทอง. 2548.ชีววิทยา 1. พิมพ์ครั้งที่ 2 . บริษัทด้านสุขภาพการพิมพ์ จำกัด. กรุงเทพฯ.

- อักษร ศรีเปล่ง, พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์, พัชรี สุนทรนันท์ และ สาวิตรี ลิ้มทอง. 2548.ชีววิทยา 3. พิมพ์ครั้งที่ 2 . บริษัทด้านสุขภาพการพิมพ์ จำกัด. กรุงเทพฯ.
- Bio Ag Techologies International. 1999. Humic acid structure and properties. Bio Ag Techologies International all rights reserved. California.
- Cambell, R. 2007. Biology. Growth-root. Available Source: <http://www.nicerweb.com/doc/class/bio1152/Locked/media/ch35/growth-roots.html>, January 8, 2007.
- Christensen, J.B. and T.H. Christensen. 2000. The effect of pH on the complexation of Cd, Ni and Zn By Dissolved organic carbon from leachate-polluted groundwater. **Water Research**. 34: 3743-3754.
- Chugh, L.K. and S.K. Sawhney. 1996. Effect of cadmium on germination, amylases and rate of respiration of germinating pea seeds. **Environmental Pollution**. 92: 1-5.
- Dart, R. C. 2004. Medical Toxicology. USA: Lippicott Williams&Wilkins.
- Drazic, G and N. Mihailovic. 2005. Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid. **Plant Science**. 168: 511-517.
- El-Shahaby, O.A. , H.M. Abdel Migid, M.I. Soliman and I.A. Mashaly. 2003. Genotoxicity screening of industrial wastewater using the *Allium cepa* Chromosome aberration assay. **Journal of Biological Sciences**. 6: 23-28.
- Frost, P.C., P.A. Maurice and J.B. Fein. 2003. The effect of cadmium on fulvic acid adsorption to *Bacillus subtilis*. **Chemical Geology**. 200: 217-224.
- Fusconi, A., O. Repetto., E. Bona., N. Massa., G. Cristina., E. Dumas-Gaudot. and G. Berta. 2006. Effects of cadmium on meristem activity and nucleus ploidy in root of *Pisum sativum* L.cv. Frisson seedings. **Environmental and Experimental Botany**. 1-8.
- Gichner, T., Z. Patkova, J. Szakova and K. Demnerova. 2004. Cadmium induces DNA damage in tobacco roots, but no DNA damage, somatic mutations or homologous recombination in tobacco leaves. **Mutation Research**. 559: 49-57.
- Gondar, D., R. Lopez, S. Fiol, J.M. Antelo and F. Arce. 2005. Cadmium, lead and copper binding to humic acid and fulvic acid extracted from an ombrotrophic peat bog. **Geoderma**. Accepted 9 December.

- Grant, W.F. and E.T. Owens. 2001. Chromosome aberration assays in *Pisum* for the study of environmental mutagens. **Mutation Research**. 488: 93-118.
- Ivanova, E., T.A. Staikova and I. Velcheva. 2005. Cytogenetic testing of heavy metal and cyanide contaminated river waters in a mining region of Southwest Bulgaria. **Journal of cell and Molecular Biology**. 4: 99-106.
- 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.
- Kipton, H., J. Powell and E. Fenton. 1996. Size fractionation of humic substances: Effect on protonation and metal binding properties. **Analytica Chimica Acta**. 334: 27-38.
- Klaassen, C.D. Casarett and Doll's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 6 th ed. USA: McGraw-Hill. 2001.
- Koukal, B., C. Guéguen, M. Pardos and C. Dominik. 2003. Influence of humic substances on the toxic effects of cadmium and zinc to the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Chemosphere**. 53: 953-961.
- Knauer, K. and J. Buffle. 2001. Adsorption of fulvic acid on algal surfaces and its effect on carbon uptake. **Phycology**. 37: 47-51.
- Larive, C.K., A. Rogers, M. Morton and W.R. Carper. 1996. ^{113}Cd NMR binding studies of Cd-Fulvic acid complexes: Evidence of fast exchange. **Environmental Science Technology**. 30: 2828-2831.
- Leenheer, J.A., R.L. Wershaw and M.M. Reddy. 1995. Strong-acid, carboxyl-group structures in fulvic acid from the Suwannee River, Georgia. 1. minor structures. **Environ. Sci. Technol.** 29: 393-398.
- Marcano, L., I. Carruyo, A. Del Campo and X. Montiel. 2002. Effect of cadmium on nucleoli of meristematic cells of onion, *Allium cepa L.*: an Ultrastructural study. **Environmental Research Section A**. 88: 30-35.
- Massaro, E.J. Handbook of human toxicology. USA: CRC Press, 1997.
- Meie, W. and Q. Zhou. 2005. Single and joint toxicity of chlorimuron-ethyl, cadmium, and

- copper acting on wheat *Triticum aestivum* **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 60: 169-175.
- Mohanty, S., A. B. Das, P. 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**. 59: 70-75.
- Nutranetics, 2000. Humic Acid Structure and Properties.: 1-12.
- Panda, K.K., J. Patra and B.B. Panda. 1997. Persistence of cadmium-induced adaptive response to genotoxicity of maleic hydrazide and methyl mercuric chloride in root meristem cells of *Allium cepa* L. : Differential inhibition by cycloheximide and buthionine sulfoximine. **Mutation Research**. 389: 129-139.
- Ramos, I., E. Esteban, J. J. Lucena and A. Garate. 2002. Cadmium uptake and subcellular distribution in plants of *Lactuca* sp. Cd-Mn interaction. **Plant Science**. 162: 761-767.
- Ranen, P.H., Evert, RF. and SE Eichhorn. 2005. **Biology of Plants**. W.H. Freeman and Company Publishers. New York.
- Rank, J. and M.H. Nielsen. 1998. Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. **Mutation Research**. 418: 113-119.
- Rauthan, B.S. and M. Schnitzer. 1981. Effects of a soil fulvic acid on the growth and nutrient content of cucumber (*Cucumis sativus*) plants. **Plant and Soil**. 63: 491-495.
- Reuter J.H. and E.M. Peuter. 1976. Importance of heavy metal metal-organic matter interactions in natural water. **Geochimica of Cosmochimica Acta**. 41: 325-334.
- Saar and Weber. 1980 Comparison of spectrofluorometry and ion-selective electrode potentiometry for determination of complexes between fulvic acid and heavy-metal ions. **Anal. Chem**. 52: 2095–2100.
- Sang, N. and G. Li. 2004. Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba*. **Mutation Research**. 560 : 195-165.
- Stumm, W. and J.J. Morgan. Aquatic chemistry. John Wiley & Sons. New York. 1996.
- Wightman, P.G. and J.B. Fein. 2001. Ternary interactions in a humic acid-Cd-bacteria system. **Chem. Geol**. 180: 55-65.

- Yi, H. and Z. Meng. Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*. **Mutations Research**. 537 : 109-114.
- Yu, Ming-Ho. 2001. Environmental Toxicology: Impacts of Environmental toxicants on Living Systems. CRC Press LLC, USA.
- Zhang, Y. and H. Xiao. 1998. Antagonistic effect of calcium, zinc and selenium against cadmium induced chromosomal aberrations and micronuclei in root cells of *Hordeum vulgare*. **Mutation Research**. 420: 1-6.
- _____ and X. Yang, 1994. The toxic effects of cadmium on cell division and chromosomal morphology of *Hordeum vulgare*. **Mutation Research**. 2: 121-126.
- Zheljazkov, V.D., Craker L.E. and Xing Baoshan. 2005. Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint and basil. **Environmental and Experimental Botany**. 58: 9-16.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารเคมี

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมสีย Aceto-Orcein

Orcein (synthetic)	2.2	กรัม	(CAS: 2015/04/30)
45 % glacial acetic	100	mL	(CAS: 64-19-7)

เตรียมโดยชั่ง Orcein (synthetic) 2.2 กรัม ผสมกับ 45% glacial acetic 100 mL นำไปต้มบน hotplate ด้วยไฟอ่อนๆจนสีละลายจนเข้ากันดี และเมื่อสีเย็นตัวลงนำไปกรองใส่ขวดสีชา (Stock) และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น 4°C เมื่อจะนำมาใช้ให้เตรียมเป็น 60% Aceto-Orcein โดยนำ stock สีมา 60 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 mL ซึ่งจะได้สีที่มีความเข้มข้น 60% และสามารถนำไปใช้ได้ทันที

2. วิธีการเตรียม 20% Nitric acid สำหรับล้างอุปกรณ์

ใส่ Milli Q-water ลงในขวดปริมาตร 1000 mL ประมาณ 200 mL

1. ปิเปตกรดไนตริกเข้มข้นระดับ Trace Metal Grade มา 200 mL ใส่ในขวดปริมาตร
2. จากนั้นปรับปริมาตรด้วย Milli Q-water ให้เป็น 1000 mL

3. วิธีการเตรียม Fixative

95% Ethanol alcohol องค์การสุรา กรมสรรพสามิต

Acetic acid J.T.Baker Cat.No. 9507-03

ปิเปต 95 % ethanol alcohol ลงในกระบอกแก้ว 21 mL และจึงปิเปต acetic acid มา 7 mL จะได้ปริมาตรทั้งหมด 28 mL ในอัตราส่วนของ ethanol: acetic acid (3: 1)

4. วิธีการเตรียม 1 N HCl

Hydrochloric acid	87	mL	J.T. Baker Cas. No. 7647-01-0
น้ำกลั่น	913	mL	

5. วิธีการล้างอุปกรณ์

การล้างภาชนะที่เป็นพลาสติกชนิด polyfluorocarbon polyethylene หรือ polymethacrylates เครื่องแก้วและวัสดุที่ใช้ในการทดลองโดยอุปกรณ์จะต้องผ่านการล้างน้ำประปา

2-3 ครั้ง นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50°C หลังจากภาชนะแห้งแล้วจึงนำมาโดยแช่ใน 20% HNO_3 นาน 24 ชั่วโมง และนำไปล้างด้วย DI 3 ครั้ง เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีโลหะหนักตกค้างอยู่ หลังจากนั้นจึงนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6. การเตรียมสารละลาย Cd

ในการทดลองนี้ใช้สารประกอบ Cd ในรูปคลอไรด์ซึ่งมา 0.0023 g ในน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 100 mL จะได้ stock ที่มีความเข้มข้น 10^{-4}M ความเข้มข้นของแคดเมียมที่ 10^{-6}M เตรียมโดยปิเปตจาก stock มา 5 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 500 mL ความเข้มข้นที่ 10^{-7}M ปิเปตจาก 10^{-6}M มา 50 mL และปรับปริมาตรด้วย DI ให้เป็น 500 mL และที่ความเข้มข้น 10^{-8}M ปิเปตจาก 10^{-7}M มา 50 mL และปรับปริมาตรด้วย DI ให้เป็น 500 mL และที่ความเข้มข้น 10^{-9} ปิเปตจาก 10^{-8}M มา 50 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 500 mL และที่ความเข้มข้น 10^{-9}M ปิเปตจาก 10^{-10}M มา 50 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้เป็น 500 mL ในการเตรียมสารละลายแคดเมียมในแต่ละครั้งควรเตรียมให้พอดีกับที่จะใช้ในการทดลองเพื่อป้องกันสารประกอบเปลี่ยนรูปเป็นรูปอื่นแล้วจึงนำแคดเมียมที่เตรียมได้ไปทดสอบกับเมล็ดผักกาดเงินที่กำลังงอกทันที

7. การเตรียมสารละลาย FA

การเตรียมสารละลาย FA โดยเตรียมจาก fulvic acid 0.1 g ใน DI 100 mL จะได้ความเข้มข้น 10^{-3}M โดยปิเปตมา 0.5 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนให้เป็น 500 mL จะได้ความเข้มข้น 10^{-6}M ความเข้มข้น 10^{-7}M เตรียมจาก 10^{-6}M ปิเปต มา 50 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนให้เป็น 500 mL และที่ความเข้มข้น 10^{-8}M เตรียมจาก 10^{-7}M ปิเปตมา 50 mL และปรับปริมาตรด้วย DI ให้เป็น 500 mL ในการเตรียมละลาย FA ในแต่ละครั้งควรเตรียมให้พอดีกับที่จะใช้ในการทดลองเพื่อป้องกันสารประกอบเปลี่ยนรูปเป็นรูปอื่นแล้วจึงนำ DI ที่เตรียมได้ไปทดสอบกับเมล็ดผักกาดเงินที่กำลังงอกทันที

8. การเตรียมสารละลาย Cd-FA (1:1)

ในการทดลองนี้ใช้สารละลาย Cd-FA โดยเตรียมจาก stock ของสารละลาย FA ความเข้มข้น 10^{-3}M stock สารละลาย Cd 10^{-5}M การเตรียมสารละลาย Cd 10^{-6}M ปิเปตจาก stock 10^{-5}M มา 50 mL กับสารละลาย FA 10^{-6}M ปิเปตจาก stock สารละลาย FA 10^{-3}M มา 0.5 mL

ปรับปริมาตรด้วย DI ให้เป็น 500 mL การเตรียมสารละลาย Cd 10^{-7} M ปิเปิดจาก stock สารละลาย Cd 10^{-5} M มา 5 mL กับสารละลาย FA 10^{-6} M ปิเปิดจาก stock สารละลาย FA 10^{-3} M มา 0.5 mL ปรับปริมาตรด้วย DI ให้เป็น 500 mL การเตรียม Cd 10^{-8} M ปิเปิดจาก stock สารละลาย Cd 10^{-5} M. มา 0.5 mL กับสารละลาย FA 10^{-6} M ปิเปิดจาก stock สารละลาย FA 10^{-3} M มา 0.5 mL ปรับปริมาตรด้วย DI 500 mL ในการเตรียมสารละลายในแต่ละครั้งควรเตรียมให้พอดีกับที่จะใช้ในการทดลองแต่ละครั้งเพื่อป้องกันสารประกอบเปลี่ยนเป็นรูปอื่นแล้วจึงนำสารละลายที่เตรียมได้ไปทดสอบกับเมล็ดผักกาดเงินที่กำลังงอกทันที

9. วิธีการคัดเลือกเมล็ด

ในการคัดเลือกเมล็ดพืชสามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน เช่น การนำเมล็ดพืชมาคัดเลือกเมล็ดที่มีความสมบูรณ์ไม่มีร่องรอยของการทำลายจากแมลงหรือเมล็ดที่มีความเสียหายจากการขนย้ายคือ เมล็ดที่มีบาดแผลเป็นต้น และอีกวิธีหนึ่งที่นิยมทำกันมากในการเพาะปลูกพืชคือการนำเมล็ดพืชไปลอยน้ำเพื่อตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่จะนำไปปลูก โดยดูจากเมล็ดที่จมน้ำจะเป็นเมล็ดที่มีความสมบูรณ์มากที่สุดส่วนเมล็ดที่ลอยน้ำเป็นเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์อาจเป็นเมล็ดที่ลีบแคระแกรนหรือเป็นเมล็ดที่ถูกแมลงทำลายเป็นต้น

ภาคผนวก ข
ตารางแสดงผลการทดลอง

ตารางที่ 12 ผลของสารละลาย Cd ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MI บริเวณปลาย

รากของผักนึ่งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

ความเข้มข้น	Prophase (%) $\bar{X} \pm SE$	Metaphase (%) $\bar{X} \pm SE$	Anaphase (%) $\bar{X} \pm SE$	Telophase (%) $\bar{X} \pm SE$	Total (%) $\bar{X} \pm SE$
DI	10.00±0.66 ^b	3.42±0.16 ^c	2.62±0.25 ^c	0.99±0.09 ^{ab}	17.03±0.57 ^c
Cd10 ⁻¹⁰ M	18.96±1.14 ^c	2.79±0.26 ^{bc}	1.44±0.17 ^a	1.37±0.18 ^b	24.56±1.26 ^d
Cd 10 ⁻⁹ M	20.41±1.23 ^c	3.30±0.17 ^c	1.62±0.20 ^{ab}	2.08±0.24 ^c	27.71±1.37 ^c
Cd 10 ⁻⁸ M	7.68±0.60 ^a	2.58±0.31 ^b	2.08±0.20 ^{bc}	0.67±0.08 ^a	13.01±0.46 ^b
Cd 10 ⁻⁷ M	5.64±0.33 ^a	2.73±0.25 ^{bc}	1.89±0.18 ^{ab}	0.66±0.08 ^a	10.92±0.41 ^{ab}
Cd 10 ⁻⁶ M	5.42±0.39 ^a	1.89±0.16 ^a	1.50±0.18 ^{ab}	0.80±0.08 ^a	9.61±0.67 ^a

หมายเหตุ 1) อักษรตัวยกที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ^{b,c,d และ c}

2) อักษรตัวยกที่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ^{a หรือ ab}

3) SE= standard error, n=10

ตารางที่ 13 ผลของสารละลาย Cd ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MA บริเวณปลาย

รากของผักนึ่งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

ความเข้มข้น	Bridge (%) $\bar{X} \pm SE$	Disturb (%) $\bar{X} \pm SE$	Fragment (%) $\bar{X} \pm SE$	Laggard (%) $\bar{X} \pm SE$	Total (%) $\bar{X} \pm SE$
DI	0.05±0.02 ^a	0.11±0.01 ^a	0.02±0.01	0.00±0.00	0.18±0.02 ^a
Cd 10 ⁻¹⁰ M	0.03±0.02 ^a	0.16±0.03 ^{ab}	0.01±0.01	0.00±0.00	0.20±0.04 ^a
Cd 10 ⁻⁹ M	0.12±0.03 ^{ab}	0.26±0.04 ^{bc}	0.04±0.02	0.03±0.01	0.45±0.08 ^b
Cd 10 ⁻⁸ M	0.20±0.02 ^b	0.50±0.05 ^d	0.02±0.01	0.01±0.01	0.73±0.06 ^c
Cd 10 ⁻⁷ M	0.15±0.03 ^b	0.58±0.05 ^d	0.01±0.01	0.02±0.01	0.72±0.05 ^c
Cd 10 ⁻⁶ M	0.20±0.04 ^b	0.37±0.04 ^c	0.03±0.01	0.02±0.01	0.48±0.07 ^{bc}

หมายเหตุ 1) อักษรตัวยกที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ^{b,c และ d}

2) อักษรตัวยกที่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความ

เชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ^a หรือ ^{ab}

3) SE= standard error, n=10

ตารางที่ 14 ผลของสารละลาย Cd-FA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MI บริเวณ

ปลายรากของผักบุ้งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

ความเข้มข้น	Prophase (%) $\bar{X} \pm SE$	Metaphase (%) $\bar{X} \pm SE$	Anaphase (%) $\bar{X} \pm SE$	Telophase (%) $\bar{X} \pm SE$	Total (%) $\bar{X} \pm SE$
DI	10.00±0.66 ^b	3.42±0.16 ^b	2.62±0.25 ^c	0.99±0.05 ^a	17.03±0.57 ^b
Cd-FA10 ⁻¹⁰ M	12.29±0.49 ^c	3.22±0.15 ^b	1.88±0.10 ^b	1.03±0.09 ^a	18.42±0.54 ^b
Cd-FA 10 ⁻⁹ M	11.86±1.09 ^{bc}	2.33±0.22 ^a	1.35±0.16 ^a	1.67±0.19 ^b	17.21±1.11 ^b
Cd-FA 10 ⁻⁸ M	5.83±0.44 ^a	2.18±0.33 ^a	1.61±0.15 ^{ab}	0.69±0.14 ^a	10.31±0.66 ^a
Cd-FA 10 ⁻⁷ M	7.34±0.69 ^a	2.11±0.13 ^a	1.91±0.22 ^b	1.03±0.10 ^a	12.39±0.79 ^a
Cd-FA 10 ⁻⁶ M	7.26±0.46 ^a	1.81±0.17 ^a	1.30±0.10 ^a	0.75±0.10 ^a	11.12±0.47 ^a

หมายเหตุ 1) อักษรตัวยกที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ^b และ ^c

2) อักษรตัวยกที่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ^a หรือ ^{ab}

3) SE= standard error, n=10

ตารางที่ 15 ผลของสารละลาย Cd-FA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MA บริเวณ

ปลายรากของผักบุ้งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

ความเข้มข้น	Bridge (%) $\bar{X} \pm SE$	Disturb (%) $\bar{X} \pm SE$	Fragment (%) $\bar{X} \pm SE$	Laggard (%) $\bar{X} \pm SE$	Total (%) $\bar{X} \pm SE$
DI	0.05±0.02 ^{ab}	0.11±0.01 ^a	0.02±0.01	0.00±0.00	0.18±0.02 ^a
Cd - FA10 ⁻¹⁰ M	0.01±0.01 ^a	0.11±0.01 ^a	0.01±0.01	0.00±0.00	0.13±0.03 ^a
Cd - FA 10 ⁻⁹ M	0.05±0.02 ^{ab}	0.20±0.03 ^{ab}	0.01±0.01	0.01±0.01	0.27±0.06 ^a
Cd - FA 10 ⁻⁸ M	0.15±0.03 ^c	0.33±0.03 ^b	0.01±0.01	0.00±0.00	0.49±0.06 ^b
Cd - FA 10 ⁻⁷ M	0.14±0.05 ^{bc}	0.56±0.07 ^c	0.00±0.00	0.01±0.01	0.71±0.08 ^c
Cd - FA 10 ⁻⁶ M	0.06±0.02 ^{abc}	0.55±0.07 ^c	0.00±0.00	0.01±0.01	0.62±0.07 ^{bc}

หมายเหตุ 1) อักษรตัวยกที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ^b และ ^c

- 2) อักษรตัวยกที่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ^{a, ab หรือ abc}
- 3) SE= standard error, n=10

ตารางที่ 16 ผลของสารละลาย FA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MI บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

ความเข้มข้น	Prophase (%) $\bar{X} \pm SE$	Metaphase (%) $\bar{X} \pm SE$	Anaphase (%) $\bar{X} \pm SE$	Telophase (%) $\bar{X} \pm SE$	Total (%) $\bar{X} \pm SE$
DI	10.00±0.66 ^b	3.42±0.16 ^c	2.62±0.25 ^c	0.99±0.09 ^{ab}	17.03±0.57 ^{cd}
FA10 ⁻¹⁰ M	12.31±1.18 ^c	2.60±0.37 ^{abc}	1.29±0.11 ^a	1.89±0.12 ^c	18.09±1.22 ^d
FA 10 ⁻⁹ M	10.01±0.62 ^b	1.96±0.32 ^a	1.27±0.14 ^a	1.31±0.23 ^b	14.55±0.65 ^{bc}
FA 10 ⁻⁸ M	4.70±0.39 ^a	2.50±0.25 ^{abc}	1.56±0.11 ^{ab}	0.67±0.08 ^a	9.43±0.52 ^a
FA 10 ⁻⁷ M	4.40±0.44 ^a	2.23±0.21 ^{ab}	1.81±0.17 ^{ab}	0.80±0.10 ^a	9.24±0.61 ^a
FA 10 ⁻⁶ M	5.74±0.99 ^a	3.04±0.51 ^{bc}	2.00±0.31 ^b	1.06±0.22 ^{ab}	11.84±1.89 ^{ab}

- หมายเหตุ 1) อักษรตัวยกที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ^{b, c และ d}
- 2) อักษรตัวยกที่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ^{a, ab หรือ abc}
- 3) SE= standard error, n=10

ตารางที่ 17 ผลของสารละลาย FA ความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิด MA บริเวณปลายรากของผักนึ่งจีนเปรียบเทียบกับชุดควบคุม DI

ความเข้มข้น	Bridge (%) $\bar{X} \pm SE$	Disturb (%) $\bar{X} \pm SE$	Fragment (%) $\bar{X} \pm SE$	Laggard (%) $\bar{X} \pm SE$	Total (%) $\bar{X} \pm SE$
DI	0.05±0.02	0.11±0.01 ^a	0.02±0.013	0.00±0.00	0.18±0.02 ^a
FA10 ⁻¹⁰ M	0.07±0.02	0.18±0.03 ^a	0.01±0.01	0.00±0.00	0.23±0.05 ^a
FA 10 ⁻⁹ M	0.07±0.02	0.18±0.03 ^a	0.00±0.00	0.00±0.00	0.26±0.04 ^a
FA 10 ⁻⁸ M	0.11±0.04	0.40±0.08 ^b	0.01±0.01	0.01±0.01	0.53±0.07 ^b
FA 10 ⁻⁷ M	0.09±0.02	0.38±0.10 ^b	0.04±0.03	0.00±0.00	0.51±0.09 ^b
FA 10 ⁻⁶ M	0.04±0.02	0.13±0.03 ^a	0.00±0.00	0.00±0.00	0.17±0.03 ^a

- หมายเหตุ 1) อักษรตัวยกที่ไม่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความ

- เชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ^b
- 2) อักษรตัวยกที่เหมือนกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 เช่น ^a ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ ^a
 - 3) SE= standard error, n=10

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ - สกุล นางสาวนนุช กำลั้งแพทย์
 ที่อยู่ 63/32 ม. 6 หมู่บ้านเกษมเพชรวิลล่า 2 ต.ลำพญา อ.เมือง จ.นครปฐม 73000
 สถานที่ทำงาน ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
 โทรศัพท์ 034-243429 โทรสาร 034-273046
 e-mail address nuch_nongnuch@hotmail.com

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

พ.ศ. 2538 ปริญญาตรีสาขา พืชศาสตร์(ไม้ผล) สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้
 พ.ศ. 2540 เข้ารับราชการตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา
 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
 พ.ศ. 2548 ศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่

คณิสต์ เสงี่ยมสุนทร, นงนุช กำลั้งแพทย์, เรณู เวชรัชต์พิมล (2548) ความเป็นพิษของสารสะเดา สกัดที่มีผลต่อสารพันธุกรรมในเซลล์เพาะเลี้ยงของหนู (L929) การประชุมวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 31 (วทท.11) ในระหว่างวันที่ 18-20 ตุลาคม 2548 ณ เทคโนโลยีธานีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา (บทคัดย่อ)

ชินรัตน์ แจ่มแสงฟ้า, นงนุช กำลั้งแพทย์, เรณู เวชรัชต์พิมล (2548) การเปรียบเทียบวิธีประเมิน ความเป็นพิษของทองแดงต่อเซลล์เพาะเลี้ยงของหนูเมาส์. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 31 (วทท.11) ในระหว่างวันที่ 18-20 ตุลาคม 2548 ณ เทคโนโลยีธานีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา (บทคัดย่อ)

นงนุช กำลั้งแพทย์ วิไลภรณ์ บุญญกิจจินดา สุพรรณัญญา เล็งสาย และวิมล ขวัญเกื้อ (2550)การ คัดเลือกพืชเพื่อเป็นดัชนีทางชีวภาพ โดยวิธีการตรวจสอบความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม I การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 15 “พันธุศาสตร์กับการพัฒนาประเทศ ตามแนวทางเศรษฐกิจพอเพียง” ในระหว่างวันที่ 23-25 พฤษภาคม 2550 ณ โรงแรม บีพี สมิหลา บีช สงขลา (บทคัดย่อ)

Areeksere, M., Vejaratpimol, R. and **Gumlungpat, N.** (2004) Microstructure investigations of porcine ampulary oviductal epithelial cells by scanning electron microscope. Abstract of 30th Congress on Science and Technology of Thailand. October 19-21, Impact Exhibition and Convention Center, Muang Thong Thani, Bangkok, Thailand, p. 43

Gumlungpate, N., Sanmanee, N. and Panishkan, K. (2006). Genotoxicity Testing of Cd on the *Ipomoea aquatica* Forsk. The Eleventh Biological Sciences Graduate congress. December 15-17, 2006. Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, P.188.

ประสบการณ์ในการศึกษาดูงานวิจัยในต่างประเทศ

ปี 2547 ได้รับทุนจากสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาภายใต้โครงการส่งเสริมการเพิ่มสมรรถนะและขีดความสามารถในการแข่งขันของประเทศ ไปศึกษาดูงานด้านการใช้เซลล์ทดสอบสารพิษ ณ Centre for Heavy Metals Research, School of Chemistry, University of Sydney และ Toxicological Research Program ณ Lincoln University และ Biosensor Research Laboratory ณ Lincoln Technology

ประสบการณ์ในการอบรมเชิงปฏิบัติการด้านเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

ปี 2546 การใช้โปรแกรม “Image Analyzer” ในการวิเคราะห์ภาพจากกล้องจุลทรรศน์
ณ มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปี 2546 “Micromanipulator and ICSI technique” ณ มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปี 2547 อบรมเชิงปฏิบัติการ Basic Fluorescence and Imaging Workshop ณ
มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา

ปี 2549 อบรมเชิงปฏิบัติการ Environmental Toxicology & Biosensor Technology 14-
15 November ณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
จ. นครปฐม