

2020



2

การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัย ระดับชาติ ครั้งที่ 8 และระดับนานาชาติ ครั้งที่ 4

*“งานวิจัย และนวัตกรรมเพื่อการพัฒนาสังคมให้ยั่งยืน”
“Research and Innovation for the Development
of Society toward Sustainability”*

ประชุมวิชาการผ่านระบบออนไลน์ วันที่ 26 เมษายน 2563 เวลา 09.00 – 17.45 น.

มหาวิทยาลัยกรุงเทพ

สารบัญ

การนำเสนอผลงานวิจัย	หน้า
กลุ่มสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	
19 ผลทางไซโตเจเนติกของสารสกัดสาหร่ายทะเล (<i>Ascophyllum nodosum</i>) และสารสกัดสะเดา (<i>Azadirachta indica</i>) ในเซลล์รากหอม The Cytogenetic Effects of <i>Ascophyllum nodosum</i> Extract and <i>Azadirachta indica</i> Extract in Allium Test. ภรดา คณารักษ์สมบัติ, แสงเดือน ศรีเพชร และวีรยา ทลิแคล้ว.....	178
20 การศึกษาปริมาณฝุ่นละอองขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอน และทัศนคติด้านสุขภาพของในบริเวณพื้นที่มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี A study of particle size smaller than 10 microns and health attitudes In the Bangkok Thonburi University. ภารวี มั่นสุขผล, พงษ์เทพ ผลประเสริฐ.....	189
21 การทดลองปุ๋ยสำหรับกล้วยไม้ดินกลุ่มลายน้ำทอง Fertilizer Trial for Terrestrial Orchids in The Group of Jewel Orchids. สุเทพ ทองแพ, เพชรรัตน์ จันทรทิณ และสมพร หาญพงศ์พันธ์.....	197
22 การทดลองปุ๋ยสำหรับบีโกเนียสายพันธุ์ดาร์ทวาเดอเรียนา Fertilizer Trial for <i>Begonia Darthvaderiana</i> . สุเทพ ทองแพ, เพชรรัตน์ จันทรทิณ.....	207
23 การพัฒนาบทเรียนคอมพิวเตอร์ช่วยสอนเรื่องการเขียนโปรแกรมคอมพิวเตอร์ 2 The Development of Computer Assisted Instruction Lesson on Computer Programming 2. เอกชัย ศิริเลิศพรรณนา.....	217
24 การพัฒนาบทเรียนคอมพิวเตอร์ช่วยสอนเรื่องคอมพิวเตอร์แอนิเมชัน 2 มิติ The Development of Computer Assisted Instruction Lesson on Computer Animation 2 Dimantions. ณัชชา ธาตรีรัตนนท์, เอกชัย ศิริเลิศพรรณนา.....	225
25 การพัฒนาและหาประสิทธิภาพของการจำลองเสมือน เรื่อง อาณาจักรของสิ่งมีชีวิต Development and Find The Efficiency of Virtual Simulation: Kingdom of life อิริยา ผ่องพิทยา, เสรียม บุชบาบาน.....	233

ผลทางไซโตจีนิตีของสารสกัดสาหร่ายทะเล (*Ascophyllum nodosum*)

และสารสกัดสะเดา (*Azadirachta indica*) ในเซลล์รากหอม

The Cytogenetic Effects of *Ascophyllum nodosum* Extract

and *Azadirachta indica* Extract in *Allium* Test

กรตา คณารักษ์สมบัติ¹, แสงเดือน ศรีเพชร² และวีรยา หลีแคล้ว³

Suparada Khanaraksombat⁴, Sangduen Sriphet⁵ and Weeraya Leekwaew⁶

¹⁻⁴สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี, 02-8006800 ต่อ 2206

¹⁻⁴Environmental Technology, Science and Technology, Bangkokthonburi University, 02-8006800 ต่อ 2206

⁵สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี, 02-8006800 ต่อ 2206

⁵Environmental Technology, Science and Technology, Bangkokthonburi University, 02-8006800 ต่อ 2206

⁶สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยกรุงเทพธนบุรี, 02-8006800 ต่อ 2206

⁶Environmental Technology, Science and Technology, Bangkokthonburi University, 02-8006800 ต่อ 2206

¹e-mail: Supee.khana@gmail.com

บทคัดย่อ

ปัจจุบันการหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีในเชิงการเกษตรมากขึ้น เพื่อป้องกันปัญหาด้านสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ทำให้สารสกัดจากผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพมีความแพร่หลายมากยิ่งขึ้น สารสกัดจากสาหร่าย *Ascophyllum nodosum* เป็นสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล ประกอบด้วยธาตุอาหารที่จำเป็นต่อต้นพืชมาใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโต เร่งการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นการแตกรากใหม่ ในด้านการกำจัดศัตรูพืช สารสกัดสะเดา (*Azadirachta indica*) เป็นสารออกฤทธิ์ในการป้องกันการกำจัดแมลงศัตรูพืช สารทั้งสองชนิดนี้เกษตรกรนิยมนำมาใช้กันเป็นจำนวนมากเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร หากแต่ยังมีการกล่าวถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และด้านสุขภาพของผู้บริโภคไม่มากนัก ผู้วิจัยจึงนำสารสกัดจากสาหร่าย *A. nodosum* และ สารสกัดสะเดามาทดสอบผลทางเซลล์พันธุศาสตร์ (cytogenetics) ด้วยวิธี *Allium* Test ในเซลล์รากหอมแขก (*Allium cepa* var. *aggregatum*) ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 4 ระดับเพื่อตรวจสอบอัตราการแบ่งเซลล์ของรากหอมและความเสียหายของโครโมโซม ผลการทดลองพบว่าอัตราการแบ่งเซลล์รากหอม เพิ่มขึ้นโดยจะแปรผันตรงกับระดับของความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย *Ascophyllum nodosum* และ ระดับของความเข้มข้นของสารสกัดสะเดาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และจากการทดลองพบความเสียหายของโครโมโซม (Chromosome aberration) ในระยะแอนนาเฟส (anaphase) และระยะเทโลเฟส (telophase) ในทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัดทั้งสองชนิดแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญไปจากกลุ่มควบคุม จึงสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากสาหร่าย *A. nodosum* และสารสกัดสะเดาไม่มีผลต่อความผิดปกติของโครโมโซมของเซลล์รากหอมในระดับความ

เข้มข้นดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามควรระมัดระวังในการใช้ในระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นและการใช้ในระยะเวลาซึ่งอาจจะก่อให้เกิดผลเสียได้แก่สุขภาพของสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ: สารสกัดสะเดา, สารสกัดจากสาหร่ายทะเลสด, ความเสียหายของโครโมโซม, ไซโตจีนิติก

Abstract

The avoidance to use chemical in the present agriculture have been as concerned as the increasing of sustainable development of health and environment. So, the organic compounds come to handle; the extracts of fresh seaweed *Ascophyllum nodosum* contain many essential nutrients to regulate the plant growth, as well as the extract from *Azadirachtin indica*, which is used as insecticide in agricultural perspective for a while but there are few shreds of evidence to prove that it saves for consumers. The purpose of this experiment was to examine the cytogenetic effects of *A. nodosum* extract and *A. indica* extract by modified of the allium test method. This experimental research used the extract at 4 concentration levels to observe the mitotic index and their chromosome aberration. The results have shown that the mitotic index from both extracts was increased ($p < 0.05$) with a dose-dependent manner compared with control. Moreover, *A. nodosum* extract and *A. indica* extract at every concentration do not cause chromosome aberration in anaphase and telophase ($p < 0.05$). From the results, it can assume that both organic extracts at low concentrations do not affect to *Allium cepa* var. *aggregatum* root but might be harmed at high concentrations. Thus, the use of these extracts for agricultural propose should be concerned and consider for the long-term effects.

Keyword: Azadirachtin indicaextract, Ascophyllum nodosum extract, chromosome aberration, cytogenetic

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม และเกษตรกรถือเป็นอาชีพหลักของคนไทย ดังนั้นการผลิตและการส่งออกพืชผลทางการเกษตรถือเป็นตัวขับเคลื่อนเศรษฐกิจที่สำคัญ จึงทำให้การขยายพื้นที่เพื่อทำการเกษตร และนำสารเคมีมาใช้ในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช และการกำจัดศัตรูพืชเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มากขึ้น และเพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภคทั้งในและต่างประเทศ ทว่าการนำสารเคมีมาใช้ทำให้เกิดสารเคมีตกค้างและส่งผลกระทบต่อทั้งในด้านสุขภาพของผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันการใช้สารสกัดจากผลผลิตทางชีวภาพ เช่น สารสกัดจากยาสูบ สะเดา และ

ตะไคร้หอม ในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช และการกำจัดศัตรูพืช จึงเป็นทางเลือกสำหรับเกษตรกรที่ต้องการเพิ่มผลผลิตและลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย

สารสกัดทางชีวภาพที่ใช้ในเชิงเกษตรกรรม สารสกัดจากสาหร่าย *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis ที่จัดอยู่ในกลุ่มของสาหร่ายสีน้ำตาลถูกนำมาใช้ในด้านสารส่งเสริมการเจริญเติบโตมากที่สุด ในขณะที่สารสกัดจากสะเดา (*Azadirachta indica* A. Juss) เป็นสารสกัดที่นำมาใช้ในการจัดการโรคพืชและการกำจัดศัตรูพืชเป็นลำดับต้นๆ เช่นเดียวกัน (Norrie & Keathley, 2006; Ifeanyi et al., 2011)

สะเดา (*Azadirachta indica*) เป็นพืชพื้นเมืองที่พบในบริเวณแห้งแล้ง สารสกัดจากธรรมชาติจากสะเดาก็มีเป็นที่ใช้อย่างแพร่หลายในเชิงของสารควบคุมและกำจัดศัตรูพืช โดยมีคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแมลง สารยับยั้งรา สารยับยั้งไวรัส (Raj & Toppo, 2015; Seriana, Akmal, Darusman, & Wahyuni, 2019) มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญคืออะซาดิแรคติน (*Azadirachtin*) เป็นอนุพันธ์ของน้ำมันหอมระเหยที่พบในเมล็ดของต้นสะเดา โดยอะซาดิแรคติน มีผลยับยั้งการกินอาหาร การลอกคราบ รวมทั้งการสืบพันธุ์ของแมลงมากกว่า 200 ชนิด

สาหร่าย *A. nodosum* มีสารอาหารจำพวกโพลีแซคคาไรด์ กรดไขมันแบบไม่อิ่มตัว และเปปไทด์ที่สำคัญหลายชนิด สารสกัดจากสาหร่าย *A. nodosum* จึงถูกใช้ในการเป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโตในการเกษตรโดยสารดังกล่าวมักจะขายตามท้องตลาดในรูปของผงเพื่อละลายน้ำ ทั้งนี้ไม่สามารถบ่งชี้สารสำคัญในสารสกัดสาหร่าย *A. nodosum* ได้เนื่องจากมีมากมายหลายชนิด (Shukla et al., 2019) จากการทดสอบใช้สารสกัดสาหร่าย *A. nodosum* ในการปลูกมะเขือเทศ และพริกหวาน พบว่าต้นที่ได้รับสารสกัดสาหร่ายที่ความเข้มข้นสูงจะมีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าต้นมะเขือเทศในกลุ่มควบคุม และยังให้ผลผลิตต่อต้นในปริมาณที่มากกว่า (Ali, Farrell, Ramsubhag, & Jayaraman, 2015; O. Ali, Ramsubhag, & Jayaraman, 2019) แต่ในการทดลองเกี่ยวกับคุณภาพผลผลิตหลังเก็บเกี่ยวของมะม่วง พบว่าหลังจากการเก็บรักษาผลผลิตที่ 25 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 75 เปอร์เซ็นต์ มะม่วงที่ใช้สารสกัดสาหร่าย *A. nodosum* มีคุณภาพต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งในด้านกายภาพ เช่น สี ความชื้นของผล รวมทั้งทางด้านโภชนาการที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ต่ำกว่า (Melo, Serra, Sousa, Sousa, & Pascholati, 2018)

ในขณะเดียวกันก็มีความกังวลเกี่ยวกับการใช้สารสกัดทั้งสองชนิดนี้ในแง่ของผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม เช่น การเกิดการตกค้างของสารตามห่วงโซ่อาหาร (Bioaccumulation) และการลดลงของความหลากหลายทางชีวภาพในดินจากการใช้สารดังกล่าว ทั้งนี้ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาผลกระทบเบื้องต้นโดยศึกษาจากความผิดปกติที่เกิดกับโครโมโซมเซลล์รากหอมเมื่อได้รับ สารสกัดสาหร่าย *A. nodosum* และสารสกัดสะเดาที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อเป็นการประเมินความเป็นพิษเบื้องต้นทั้งนี้การศึกษาในรากหอมเพื่อดูอัตราการแบ่งเซลล์ และความผิดปกติที่เกิดขึ้นต่อโครโมโซม ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง เนื่องจากหัวหอมเป็นพืชที่ดีที่สุดในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครโมโซม เนื่องจากมีจำนวนโครโมโซมไม่มากนักและมีขนาดพอเหมาะ เซลล์รากหอมมีเอนไซม์หลายชนิดซึ่งผสมผสานหน้าที่ของเอนไซม์ออกซิเดสใช้ในการกระตุ้นให้pro-

mutagen กลายเป็น mutagen ทำให้ระบบนี้จะสามารถให้นำมาประยุกต์ใช้ในตรวจสอบความเป็นพิษของสารเคมีได้ ทั้งยังสามารถใช้ทดสอบกับสารหลายชนิดเนื่องจากมี pH resistance ที่กว้างคือ ตั้งแต่ 3-11 โดยไม่มีผลต่อระบบรากของหอม

ประโยชน์ของงานวิจัย

1. ทราบถึงผลกระทบสารสกัดสำหรับ *A. nodosum* และสารสกัดสะเดาต่อโครโมโซมเซลล์รากหอม เพื่อประเมินความเป็นพิษเบื้องต้น
2. นำข้อมูลไปเป็นแนวทางการให้ความรู้สำหรับการใช้สารสกัดสำหรับ *A. nodosum* และสารสกัดสะเดาให้เกิดประโยชน์สูงสุด โดยไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม

วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัย

เพื่อตรวจสอบผลความเป็นพิษระดับเซลล์ของสารสกัดสำหรับ *A. nodosum* และสารสกัดสะเดาที่มีผลต่อสารพันธุกรรมด้วยวิธี Allium test ในเซลล์ของหอมแขก (*Allium cepavar. aggregatum*)

ขอบเขตของการศึกษาวิจัย

1. ขอบเขตในเชิงการทดลอง ใช้รากหอมเป็นการทดลอง 3 ซ้ำเพื่อวิเคราะห์หาความผิดปกติของรากหอม โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่
 - 1.1 หัวหอมชุดควบคุมเชิงลบ (Negative Control) โดยใช้ น้ำประปาในการปลูก
 - 1.2 หัวหอมชุดทดลอง แช่สารละลายของสารสกัดสำหรับ *A. nodosum* และ สารสกัดสะเดาที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ
2. ขอบเขตในเชิงเนื้อหา การศึกษาค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ (Mitotic index) การศึกษาหาความผิดปกติของโครโมโซมโดยวิธี Anaphase-Telophase Chromosome Aberration Assay ตามวิธี Rank และ Nielsen (1994) และ การศึกษาทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

วิธีการทำการทดลอง

วิธีการเตรียมปลายรากหอม

ปลูกหัวหอมโดยการนำไปแช่ในสารสกัดสำหรับและสารสกัดสะเดาที่ความเข้มข้น 4 ระดับ โดยใช้เพียงน้ำประปาสำหรับชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) หลังจากแช่หอมในสารทดสอบเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยตัดปลายรากหอมให้มีความยาว 1 เซนติเมตรในช่วงเวลา 09.00 – 11.00 น. เนื่องจากการแบ่งเซลล์ในระยะไมโทซิส (mitosis phase) จะมีมากในช่วงนี้ จากนั้นนำรากหอมมาแช่น้ำยาคงสภาพ (Fixative) ซึ่งประกอบด้วย เอทานอล (Ethanol) 3 ส่วนและ กรดอะซิติก (acetic acid) 1 ส่วน เพื่อคงสภาพเซลล์ ทั้งไว้ 1 วัน หลังจากนั้นนำมาล้างและเก็บรักษาไว้ด้วย 70% เอทานอลที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการทดลองขั้นต่อไป

วิธีการตรวจสอบเซลล์รากหอม

นำรากหอมที่แช่ใน 70% เอทานอล และตัดเอาเฉพาะส่วนปลายรากสีขาวขุ่น ซึ่งเป็นบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญประมาณ 1-2 มิลลิเมตร วางบนสไลด์ที่สะอาด 1-2 รากต่อ 1 สไลด์หยดกรดไฮโดรคลอริก(HCl) ลงไป 1-2 หยด ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที ซับกรดออกให้หมด หยดสีย้อมโครโมโซม(1% Aceto-orceinstaining dye) ลงไป 1-2 หยด ใช้เข็มเขี่ยปลายแบนขยี้ปลายรากให้ละเอียดเพื่อให้เซลล์แยกออกจากกันได้มากที่สุด แยกเอาส่วนของรากที่มีขนาดใหญ่และขยี้ต่าง ๆ ทิ้งไป ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์นำสไลด์ผ่านบนเปลวไฟ เพื่อให้เซลล์ของรากหอมติดกับสไลด์และโครโมโซมแผ่กระจายดีขึ้นนำไปสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การศึกษาค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ (Mitotic index)

นับเซลล์จากรากหอมที่แช่อยู่ในช่วงการแบ่งเซลล์ในช่วงระยะไมโทซิสจากเซลล์ทั้งหมด 1000 เซลล์ ในแต่ละกลุ่มการทดลอง ค่าดัชนีการแบ่งเซลล์คำนวณได้จาก

$$\% \text{ mitotic index} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ใน mitosis phase}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมด}} \times 100$$

การศึกษาหาค่าความผิดปกติของโครโมโซมโดยวิธี Anaphase-Telophase Chromosome Aberration Assay

นับเซลล์ที่มีความผิดปกติของโครโมโซมที่อยู่ในระยะ mitosis phase จำนวนเซลล์ 1000 เซลล์ ในแต่ละกลุ่มการทดลอง โดยความผิดปกติได้แก่การเกิดบริดจ์ (bridge) การเกิดแฟรกเมนต์ (fragment) การเกิดแล็กการ์ด (laggard) และความผิดปกติชนิดอื่น ๆ เช่น ไมโครนิวเคลียส (micronucleus) ค่าความผิดปกติของโครโมโซมคำนวณได้จากสมการ

$$\% \text{ ความผิดปกติของโครโมโซม} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่มีความผิดปกติ} \times 1000}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดใน mitosis phase}}$$

การศึกษาทางสถิติ

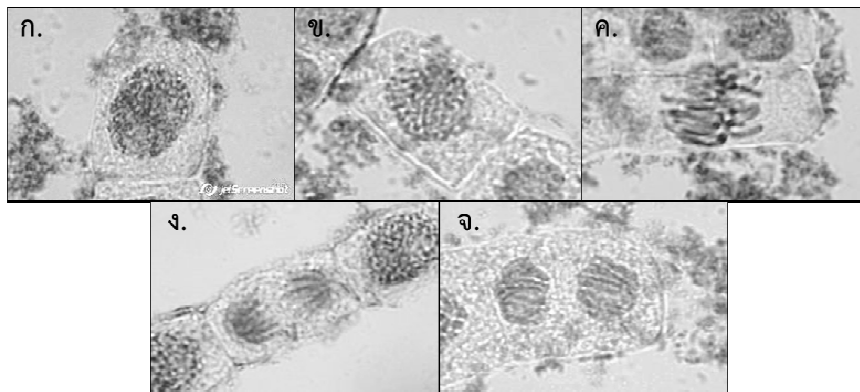
เปรียบเทียบค่าดัชนีการแบ่งเซลล์ และค่าความผิดปกติของโครโมโซมระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปในการวิเคราะห์ทางสถิติและทดสอบสมมุติฐาน การวิจัย SPSS version 22.0 การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One Way ANOVA) หรือสถิติ Welch-test (เมื่อการกระจายของข้อมูลแตกต่างกัน) และมีการเปรียบเทียบพหุคูณแบบ Bonferroni's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพบว่าค่าการกระจายของข้อมูลประชากรไม่แตกต่างกันจากการใช้ Levene's Test

ผลการทดลอง

อัตราการแบ่งเซลล์ของเซลล์รากหอมในสารสกัดสำหรับ *A. nodosum* และสารสกัดสะเดา

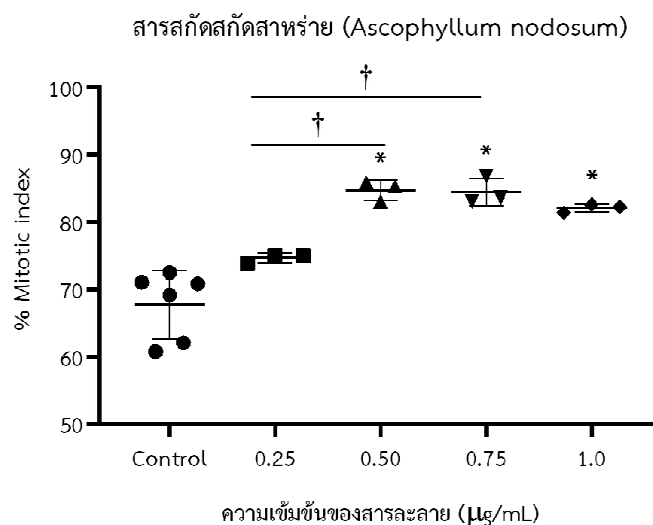
จากการศึกษาโดยการนำรากหอมที่เพาะเลี้ยงมาแช่สารทดสอบ คือ สารละลายสารสกัดสำหรับ *A. nodosum* และสารสกัดสะเดาเป็นเวลา 2 วัน ที่ความเข้มข้นต่างๆ 4 ระดับ โดยนับเซลล์จากรากหอมที่แช่อยู่ในช่วงการแบ่งเซลล์ในระยะไมโทซิส (ตั้งแต่โปรเฟส – เทโลเฟส) ดัง

ภาพที่ 1 พบว่าอัตราการแบ่งเซลล์ (mitotic index) โดยชุดควบคุม (control) มีอัตราการแบ่งเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ 67.68 ± 5.04 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดสาหร่าย *A. nodosum* มีอัตราการแบ่งเซลล์ 74.60 ± 0.69 เปอร์เซ็นต์ ที่ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ 84.70 ± 1.49 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 0.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ 84.47 ± 2.04 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ 82.07 ± 0.61 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2) นอกจากนี้สารสกัดสะเดาที่ความเข้มข้น 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ 78.47 ± 3.17 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ 87.33 ± 1.58 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 0.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ 94.03 ± 3.75 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 0.04 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ 98.30 ± 1.06 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 1 ระยะเวลาต่างๆ ในการแบ่งโครโมโซมของเซลล์รากหอม

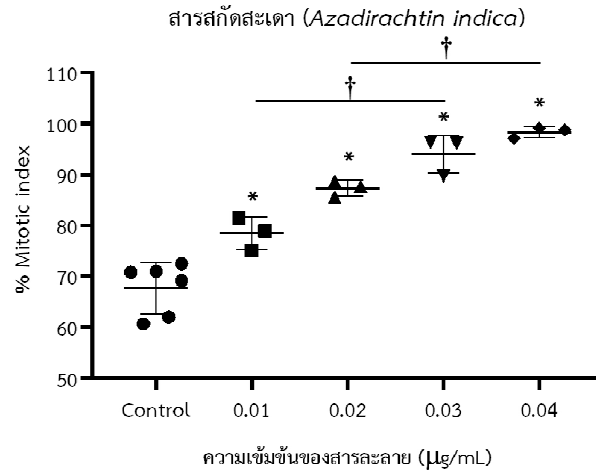
(ก.) Interphase (ข.) Prophase (ค.) Metaphase (ง.) Anaphase (จ.) Telophase



ภาพที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดสาหร่าย

Ascophyllum nodosum กับอัตราการแบ่งเซลล์รากหอม

* มีความแตกต่างกับ Negative Control, † มีความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ($P < 0.05$)



ภาพที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดสะเดากับอัตราการแบ่งเซลล์รกหอม

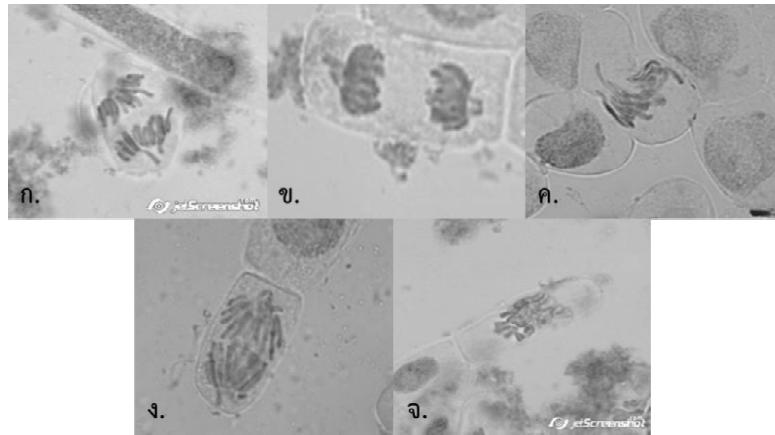
* มีความแตกต่างกับ Negative Control, †มีความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ($P < 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติพบว่าสารสกัดสาหร่าย *A. nodosum* มีความสามารถในการทำให้เซลล์รกหอมมีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรเป็นต้นไป โดยสารละลายสารสกัดสาหร่ายที่ความเข้มข้น 0.5 และ 0.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรการเพิ่มขึ้นของการแบ่งเซลล์อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่มีความเข้มข้น 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร นอกจากนี้ชุดการทดลองด้วยสารสกัดสะเดา ก็พบว่าความสามารถในการแบ่งตัวของเซลล์รกหอมเพิ่มขึ้นแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารละลายสะเดาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทั้งนี้ที่ความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดสะเดาที่ความเข้มข้น 0.03 และ 0.04 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรพบว่าการเพิ่มขึ้นของการแบ่งเซลล์มากกว่าชุดทดลองที่มีความเข้มข้น 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรอย่างมีนัยสำคัญอีกด้วย

การศึกษาค่าความผิดปกติของโครโมโซม โดยวิธี Anaphase-Telophase Chromosome Aberration Assay

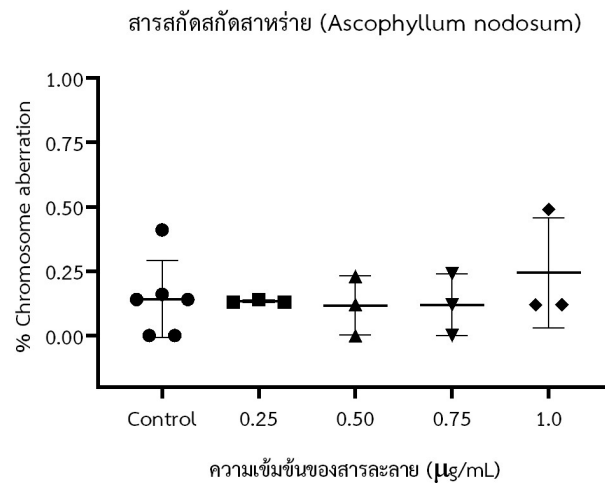
จากการทดลองเพื่อตรวจสอบความเสียหายของโครโมโซม (Chromosome aberration) ในเซลล์รกหอมในขณะที่มีการแบ่งนิเคลียสพบว่าสารละลายสารสกัดสาหร่าย *A. nodosum* และสารละลายสารสกัดสะเดาทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมในระยะแอนาเฟสและระยะเทโลเฟส ดังภาพที่ 4 โดยความผิดปกติของโครโมโซมในชุดควบคุม (control) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.14 ± 0.15 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้การทดลองด้วยสารละลายสารสกัดสาหร่าย *A. nodosum* ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.25 0.5 0.75 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร มีค่าความผิดปกติของโครโมโซมอยู่ที่ 0.13 ± 0.00 , 0.11 ± 0.12 , 0.11 ± 0.12 และ 0.24 ± 0.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลอง (ภาพที่ 5) ในขณะที่ชุดการทดลองด้วยสารละลายสารสกัดสะเดาที่ความเข้มข้น 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรมีความผิดปกติของ

โครโมโซมเฉลี่ยเท่ากับ 0.08 ± 0.14 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ 0.08 ± 0.13 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 0.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ 0.38 ± 0.36 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 0.04 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ 0.64 ± 0.23 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3) โดยในชุดการทดลองสารละลายสารสกัดสะเดาที่ความเข้มข้น 0.04 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเพียงชุดการทดลองเดียวที่พบความผิดปกติของโครโมโซมมากกว่าชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ความเข้มข้น 0.01 และ 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

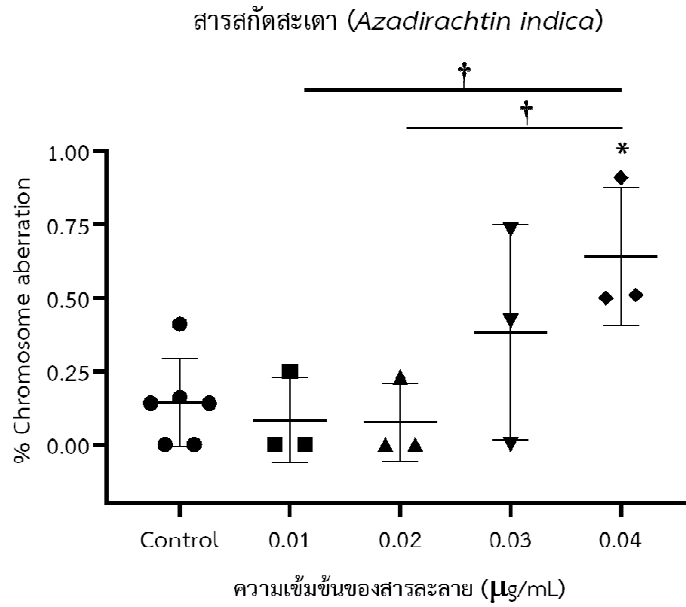


ภาพที่ 4 ระยะเวลาของเซลล์รากหอมที่เกิดความผิดปกติ

(ก.) Spindle abnormalities in anaphase (ข.) Vagrant chromosome in anaphase-telophase (ค.) Chromosome Fragments at Metaphase (ง.) Anaphase bridge (จ.) Disturbed metaphase



ภาพที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดสะเดา *Ascophyllum nodosum* กับอัตราการผิดปกติของเซลล์รากหอม



ภาพที่ 6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดสะเดากับอัตราการผิดปกติของเซลล์รากหอม

* มีความแตกต่างกับ Negative Control, †มีความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ($P < 0.05$)

สรุปผลการวิจัย การอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

จากการทดสอบผลของสารละลายสารสกัดสาหร่าย *A. nodosum* และสารสกัดสะเดาที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์และความผิดปกติของโครโมโซมในเซลล์รากหอมที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสารสกัดสาหร่าย *A. nodosum* และสารสกัดสะเดาเป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth stimulant) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่าสารสกัดสาหร่าย *A. nodosum* และสารสกัดสะเดาสามารถใช้เป็นสารเคมีทางการเกษตรได้อย่างยั่งยืน เนื่องจากสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เพิ่มผลผลิต เพิ่มสารอาหาร ลดความเครียดจากปัญหาดินเค็มดินแล้ง และช่วยปรับปรุงคุณภาพดินได้ (Lokanadhan, Muthukrishnan, & Jeyaraman, 2012; Shukla et al., 2019) แต่ในขณะเดียวกันจากงานวิจัยนี้ พบว่าความผิดปกติของโครโมโซมในเซลล์รากหอมมีอัตราที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่มีความเข้มข้นที่สูงขึ้น ทำให้จำเป็นต้องระมัดระวังการใช้งานสารสกัดสะเดา โดย Charchafchi *et al.* (2007) พบว่าเมื่อใช้สารสกัดสะเดาในความเข้มข้นสูงทำให้ออกความเป็นพิษในพืช (phytotoxic effect) และชะลอการงอกของเมล็ดได้

สารสกัดจากสาหร่าย *A. nodosum* สามารถใช้ในเชิงทางการเกษตรตามความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อให้ผลที่ดีและยั่งยืน ในขณะที่ยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าอนุพันธ์ของสารสกัดสะเดาในปริมาณที่เพิ่มขึ้นนั้น จะก่อผลเสียใดให้แก่สิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมบ้าง ฉะนั้นการใช้สารสกัดสะเดาจึงควรเป็นไปด้วยความระมัดระวัง และคำนึงถึงผลกระทบในระยะยาว

เอกสารอ้างอิง

- Ali, N., Farrell, A., Ramsubhag, A., & Jayaraman, J. (2015). The effect of *Ascophyllum nodosum* extract on the growth, yield and fruit quality of tomato grown under tropical conditions. *Journal of Applied Phycology*. doi:10.1007/s10811-015-0608-3
- Ali, O., Ramsubhag, A., & Jayaraman, J. (2019). Biostimulatory activities of *Ascophyllum nodosum* extract in tomato and sweet pepper crops in a tropical environment. *PLOS ONE*, 14(5), e0216710. doi:10.1371/journal.pone.0216710
- Charchafchi, F. A., Al-Nabhani, I., Al-Kharousi, H., Al-Quraini, F., & Al-Hanai, A. (2007). Effect of aqueous extract of *Azadirachta indica* (Neem) leaves on germination and seedling growth of *Vigna radiata* (L.). *Pak J Biol Sci*, 10(21), 3885-3889. doi:10.3923/pjbs.2007.3885.3889
- Ifeanyi, O., Odoemelam, V., Obikaonu, H. O., Opara, M., Emenalom, O., Uchegbu, M. C., . . . Iloeje, M. U. (2011). The Growing Importance of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) in Agriculture, Industry, Medicine and Environment: A Review. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5, 230-245. doi:10.3923/rjmp.2011.230.245
- Lokanadhan, S., Muthukrishnan, P., & Jeyaraman, S. (2012). Neem products and their agricultural applications. 5, 72-76.
- Melo, T. A. d., Serra, I. M. R. d. S., Sousa, A. A., Sousa, T. Y. O., & Pascholati, S. F. (2018). Effect of *Ascophyllum nodosum* seaweed extract on post-harvest 'Tommy Atkins' mangoes. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40.
- Norrie, J., & Keathley, J. P. (2006). Benefits of *Ascophyllum nodosum* marine-plant extract applications to 'Thompson seedless' grape production. *Acta Horticulturae*, 727, 243-248. doi:10.17660/ActaHortic.2006.727.27
- Raj, D., & Toppo, P. (2015). Beneficial and Harmful Effects of *Azadirachta Indica*: A Review. *Environmental Science. PARIPEX - INDIAN JOURNAL OF RESEARCH*, 4, 6-7.
- Rank, J., & Nielsen, M. H. (1994). Evaluation of the *Allium* anaphase-telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater. *Mutat Res*, 312(1), 17-24. doi:10.1016/0165-1161(94)90004-3
- Seriana, I., Akmal, M., Darusman, & Wahyuni, S. (2019). Neem leaves extract (*Azadirachta indica* A. Juss) on male reproductive system: a mini-review. *IOP*

Conference Series: Earth and Environmental Science, 399, 012106. doi:10.1088/1755-1315/399/1/012106

Shukla, P. S., Mantin, E. G., Adil, M., Bajpai, S., Critchley, A. T., & Prithviraj, B. (2019). Ascophyllum nodosum-Based Biostimulants: Sustainable Applications in Agriculture for the Stimulation of Plant Growth, Stress Tolerance, and Disease Management. 10(655). doi:10.3389/fpls.2019.00655

17. ดร.นุชนาฏ บัวศรี	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	อนุกรรมการ
18. ดร.ปิยะนันท์ พนากานต์	มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี	อนุกรรมการ
19. ดร.บุญธิดา ชุนงาม	มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา	อนุกรรมการ
20. ดร.สันติ พัฒนะวิชัย	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี	อนุกรรมการ
21. ดร.จิรพัฒน์ ธัญพงษ์ภัทร	เลขานุการวิชาการอุตสาหกรรมดิจิทัล	อนุกรรมการ
22. ดร.นุชนาพร พิจารณ์	มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี	อนุกรรมการ
23. ดร.วิวัฒน์ จึงธนศิริกุล	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้า พระนครเหนือ	อนุกรรมการ
24. ดร.ณัฐ รัชยะพงษ์	มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขต พระราชวังสนามจันทร์	อนุกรรมการ

4.1.3 คณะอนุกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาผลงาน กลุ่มวิทยาศาสตร์สุขภาพ

ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

1. ศาสตราจารย์ พล.ต.ทพ.รังษิต บุญคุ้ม	คณบดีคณะสาธารณสุข	ประธาน
2. รองศาสตราจารย์ ดร.สุที ทองวิเชียร	อาจารย์ประจำคณะพยาบาลศาสตร์	รองประธาน
3. รองศาสตราจารย์.ทพ.ทองนารถ คำใจ	คณบดีคณะทันตแพทยศาสตร์	อนุกรรมการ
4. รองศาสตราจารย์ เชาวยุทธ พรพิมลเทพ	อาจารย์ประจำคณะสาธารณสุขศาสตร์	อนุกรรมการ
5. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ทพ.ดร.ยสนันท์ จันทร์เวทิน	อาจารย์ประจำคณะทันตแพทยศาสตร์	อนุกรรมการ
6. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เรวดีทรรศน์ รอบคอบ	อาจารย์ประจำคณะพยาบาลศาสตร์	อนุกรรมการ
7. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จำลอง ชูโต	อาจารย์ประจำคณะพยาบาลศาสตร์	อนุกรรมการ
8. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุดมศักดิ์ คงเมือง	อาจารย์ประจำคณะสาธารณสุขศาสตร์	อนุกรรมการ
9. ดร.สุวิมล จอดพิมาย	คณบดีคณะพยาบาลศาสตร์	อนุกรรมการ
10. ดร.ประกิต หงส์แสนยาธรรม	คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี การกีฬา	อนุกรรมการ
11. ดร.ธวัชชัย กาญจนะทวีกุล	อาจารย์ประจำวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีการกีฬา	อนุกรรมการ
12. ดร.ครรชิต สุกุลแก้ว	อาจารย์ประจำคณะสาธารณสุขศาสตร์	อนุกรรมการ
13. ร้อยตำรวจโทหญิง ดร.เจือจันทร์ วัฒนกิจเจริญ	อาจารย์ประจำคณะพยาบาลศาสตร์	อนุกรรมการ
14. ดร.อาภากรณัฏ เป็รัมย์นิม	อาจารย์ประจำคณะพยาบาลศาสตร์	อนุกรรมการ
15. ดร.สุวิมล แสนเวียงจันทร์	อาจารย์ประจำคณะพยาบาลศาสตร์	อนุกรรมการ
16. ดร.สุตรัก จิตต์หทัยรัตน์	อาจารย์ประจำคณะพยาบาลศาสตร์	อนุกรรมการ
17. ดร.ธิตยา มีชัย	อาจารย์ประจำคณะสาธารณสุขศาสตร์	อนุกรรมการ
18. ดร.อาทิตยา ญาติสมบูรณ์	อาจารย์ประจำคณะแพทยศาสตร์	อนุกรรมการ