

18 JUN 2002



**CYTOTOXICITY TESTING OF VARIOUS CHEMICAL  
SUBSTANCES USING *IN VITRO* GROWN  
CATTAIL POLLEN TUBES**

**PATINYA SUKWONG**

With compliments  
of

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE  
(TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL MANAGEMENT)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2002**

**ISBN 974-04-1388-9**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH  
P298c  
2002  
C.2

Copyright by Mahidol University

4036821 ENTM/M : MAJOR : TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL MANAGEMENT;  
M.Sc. ( TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL MANAGEMENT)

KEY WORDS : CATTAIL / *IN VITRO* GROWN POLLEN / CYTOTOXICITY  
TESTING

PATINYA SUKWONG : CYTOTOXICITY TESTING OF VARIOUS  
CHEMICAL SUBSTANCES USING *IN VITRO* GROWN CATTAIL POLLEN TUBES.  
THESIS ADVISORS : PATANA THAVIPOKE, Ph.D., CHUMLONG ARUNLERTAREE,  
Ph.D., ACHARAPORN SUNGPETCH, Ph.D. 68 p. ISBN 974-04-1388-9

The present study was conducted with the following objectives: 1) to study the suitable experimental conditions for grown cattail (*Typha angustifolia L.*) pollen in culture medium; 2) to study the viability of cattail pollen stored under low temperature condition for a month; and 3) to study the effects of four toxic chemicals (i.e. ethanol, DMSO, paraquat, glyphosate) on germination and tube growth of cattail pollen. The photometric method using alcian blue dye was used for determination of pollen growth and tube elongation at wavelength 607 nm.

The results showed that the most ideal experimental conditions were, 18 hours incubation period, the culture medium pH level of 7, and the pollen suspension concentration of 5 mg pollen to 1 ml culture medium. It was also found that the longevity of cattail pollen stored at  $-11$  and  $4^{\circ}\text{C}$  did not increase. Comparing to freshly collected pollen, the growth of pollen stored under both temperature for one week was approximately 83 percent. While after one month, it decreased to around 22 and 14 percent, respectively.

For the cytotoxicity testing with four test chemicals, glyphosate indicated the highest inhibition effect to growth of cattail pollen ( $IC_{50}$  was 1,677 mg/l). The toxicity decreased gradually from paraquat, ethanol to DMSO ( $IC_{50}$  were 3,681, 49,981 and 147,665 mg/l, respectively). From the results, the herbicide group, i.e. glyphosate and paraquat were more toxic to cattail pollen than the solvent group, i.e. ethanol and DMSO. This could be explained from the physiochemical properties of herbicide which mainly attack the plant growth. While solvents were only slight toxic to plant cell. The results showed strong correlation with the reviewed toxicity data obtained from tobacco pollen. Thus, there are possibility to use cattail pollen in a toxicity test of various chemicals.

The results of this study show positive outcomes in terms of the possibility of experimentation not using animals. Clearly, more work needs to be done. Nevertheless, this study has made some inroads in this regard.

4036821 ENTM/M : สาขาวิชา: เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม;  
วท.ม. (เทคโนโลยีการบริหารสิ่งแวดล้อม)

ปริญญานิพนธ์ : การทดสอบความเป็นพิษของสารเคมี โดยใช้การงอกของละอองเรณู  
รูปถ่ายเป็นดัชนี (CYTOTOXICITY TESTING OF VARIOUS CHEMICAL SUBSTANCES  
USING *IN VITRO* GROWN CATTAIL POLLEN TUBES) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ :  
พัฒน ทวีโภค, Ph.D., จำลอง อรุณเลิศอารีย์, Ph.D., อัจฉราพร สังข์เพ็ชร, Ph.D. 68 หน้า  
ISBN 974-04-1388-9

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อ 1) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงละอองเรณูของรูปถ่าย  
(*Typha angustifolia* L.) ในอาหารเลี้ยง 2) เพื่อศึกษาการมีชีวิตรอดของละอองเรณูรูปถ่าย ที่เก็บรักษาไว้ในสภาวะ  
ที่มีอุณหภูมิค่าเป็นเวลาหนึ่งเดือน และ 3) เพื่อศึกษาผลการยับยั้งต่อระดับการงอกของหลอดละอองเรณูรูปถ่ายของ  
สารเคมี 4 ชนิด ได้แก่ เอทานอล (ethanol) ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) พาราควอท (paraquat) และไกลโฟเสท  
(glyphosate) โดยวิธีการวัดระดับการเจริญของหลอดละอองเรณูนั้น ใช้วิธีการติดสีอัลซัน (Alcian blue Method)  
ของหลอดละอองเรณู โดยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 607 นาโนเมตร

ในการทดสอบสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงละอองเรณูในอาหารเลี้ยง พบว่า ระยะเวลาที่เหมาะสมใน  
การเลี้ยงเกสรตัวผู้ คือ 18 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรดค่าที่เหมาะสมสำหรับอาหารเลี้ยงอยู่ที่ระดับพีเอช 7 ส่วนปริมาณ  
ของละอองเรณู ในอาหารเลี้ยง ที่เหมาะในการใช้ทำการทดลองอยู่ที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม ต่อ ปริมาตรอาหาร  
เลี้ยง 1 มิลลิลิตร และพบว่า การเก็บรักษาหลอดละอองเรณูที่อุณหภูมิ -11 และ 4 องศาเซลเซียส ไม่ได้ช่วยให้หลอดละอองเรณูมี  
อายุยืนยาวขึ้น โดยเมื่อเปรียบเทียบกับหลอดละอองเรณูที่เก็บสดจะมีความสามารถในการงอกหลังจากการเก็บรักษาไว้ภายใน  
ในสัปดาห์แรกประมาณ ร้อยละ 83 และลดลงเรื่อยๆ จนเหลือประมาณร้อยละ 20 หลังจากเก็บไว้ครบ 1 เดือน

สำหรับค่าความเป็นพิษของสารเคมีทั้งสี่ชนิด ต่อระดับการเจริญของหลอดละอองเรณูรูปถ่ายนั้น พบว่า ไกล  
โฟเสท (glyphosate) มีความเป็นพิษมากที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1,677 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนพาราควอท  
(paraquat) เอทานอล (ethanol) และไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) มีความเป็นพิษลดหลั่นตามลำดับ โดยมี ค่า  
 $IC_{50}$  เท่ากับ 3,681 49,981 และ 147,665 มิลลิกรัมต่อลิตร จากผลการทดลองนั้นจะเห็นว่า ไกลโฟเสท (glyphosate)  
กับพาราควอท (paraquat) ซึ่งเป็นสารเคมีในกลุ่มสารกำจัดวัชพืชนั้นมีความเป็นพิษต่อหลอดละอองเรณูรูปถ่ายมากกว่าเอทานอล  
(ethanol) และไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) ซึ่งเป็นสารเคมีในกลุ่มสารตัวทำละลาย เป็นเพราะสารเคมีในกลุ่มสาร  
กำจัดวัชพืช จะออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชโดยตรง ส่วนสารในกลุ่มตัวทำละลายนั้นโดยปกติจะมีความ  
เป็นพิษน้อยต่อเซลล์ของพืช ซึ่งผลการทดลองมีแนวโน้มส่วนใหญ่ใกล้เคียงกับผลการศึกษาความเป็นพิษของสารเหล่านี้  
โดยใช้หลอดเรณูต้นยาสูบที่มีการศึกษาไว้แล้ว ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำหลอดเรณูรูปถ่ายไปใช้ในการ  
ทดสอบความเป็นพิษของสารเคมี ต่างๆ ได้

ผลการทดลองของการศึกษาครั้งนี้ ยังแสดงให้เห็นถึง โอกาสที่จะนำวิธีการทดลองไปแทนวิธีการที่ใช้สัตว์ใน  
การทดสอบความเป็นพิษ แม้ว่ารายละเอียดในขั้นตอนการปฏิบัติยังคงต้องมีการปรับปรุงเพิ่มเติมอีกมาก แต่ก็อาจจัดเป็น  
การเริ่มต้น อันจะนำไปสู่วิธีการที่สามารถใช้อย่างแพร่หลายได้ในอนาคต