วารสารเกษตร 16(1) : 46 - 52 (2543)
Journal of Agriculture 16(1) : 46 - 52 (2000)

# สัณฐานวิทยาโครโมโซมของข้าวเหนียวดำ

# Karyotype of Purple Rice Chromosome

*สุณิสา สุนะรินทร์[1/] ดำเนิน กาละดี[1/] และ ฉันทนา สุวรรณธาดา[2/]*

*Sunisa Sunarin[1/] Dumnern Karladee[1/] and Chatana Suwantada[2/]*

**Abstract :** Chromosome karyotypes investigated in five rice varieties grouped as "white rice" (Sanpatong and Mali 105) and "purple rice" (Doisaket, CMU col.2 and CMU col.3) shows an equal chromosome number of 2n=24. Chromosome size and characteristic were specific and varied among the varieties. The "purple rice" obtained larger size of chromosomes than those of the "white rice". Metacentric and submetacentric chromosomes represent general morphological characteristics. Only Mali 105's chromosomes could be classified as subtelocentric, indicating that the variety is typically more cultivated than the others which still rather be the "wild type". Telocentric chromosome could not be detected in the investigated varieties. The "purple rice" group shows less consistent karyotype characteristics than the "white rice" group. SAT - chromosome was found in Mali 105 and CMU col.2.

**บทคัดย่อ :** จากการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของโครโมโซมข้าว 5 พันธุ์โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่ม"ข้าวขาว" (เหนียวสันป่าตองและหอมมะลิ 105) กับกลุ่ม "ข้าวเหนียวดำ" (ก่ำดอยสะเก็ด, CMU col.2 และ CMU col.3) พบว่าทั้ง 5 พันธุ์มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ 2n=24 แต่มีขนาดและชนิดของโครโมโซมเป็นลักษณะเฉพาะแตกต่างกันไปในแต่ละพันธุ์ โดยกลุ่ม "ข้าวเหนียวดำ" มีขนาดของโครโมโซมใหญ่กว่ากลุ่ม "ข้าวขาว" สัณฐานวิทยาของโครโมโซมที่พบโดยทั่วไปมีรูปร่างเป็น metacentric และ submetacentric ส่วนโครโมโซมที่มีสัณฐานวิทยาเป็นแบบ subtelocentrric พบในข้าวหอมมะลิ 105เท่านั้น แสดงว่าข้าวหอมมะลิ 105 มีความเป็น "ข้าวพันธุ์ปลูก" มากกว่าพันธุ์อื่นๆที่ยังคงมีสัณฐานวิทยา

[1/] ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200.

[2/] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200.

[1/] Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

[2/] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

ของโครโมโซมเป็น"พันธุ์ป่า"อยู่ นอกจากนี้ไม่พบโครโมโซมที่มีลักษณะเป็น telocentric ในพันธุ์ข้าวที่วิเคราะห์ เมื่อพิจารณาคาริโอไทป์ของแต่ละคู่โครโมโซมพบว่าข้าวกลุ่ม "ข้าวเหนียวดำ" ไม่มีความสม่ำเสมอในลักษณะสัณฐานวิทยาของคู่โครโมโซมเช่นที่แสดงในกลุ่ม "ข้าวขาว" SAT - chromosome สามารถพบได้ในข้าวหอมมะลิ 105 และ CMU col.2

**Keyword :** Karyotype, Metacentric chromosome, Submetacentric chromosome, Subtelocentric chromosome, Telocentric chromosome, SAT-chromosome

## คำนำ

การศึกษาเกี่ยวกับรายละเอียดของโครโมโซมซึ่งประกอบด้วย จำนวนโครโมโซม รูปร่างโครโมโซม และตำหนิต่าง ๆ ที่ปรากฏบนเส้นสายโครโมโซม ในระยะต่าง ๆ ของการแบ่งเซลล์เรียกว่าการศึกษาสัณฐานวิทยา (karyotype) นิยมทำการศึกษาทั้งจากการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส (mitosis) จากเซลล์ร่างกาย (somatic cell) ในส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ อาจเป็นปลายยอดหรือปลายรากพืช หรือศึกษาจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส (meiosis) จากเซลล์สืบพันธุ์ โดยเฉพาะเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้จากละอองเกสร (ภูวดล, 2528; วิสุทธิ์, 2536) คารีโอไทป์จากการแบ่งเซลล์ของเซลล์ร่างกายนิยมทำโดยเฉพาะในระยะเมตาเฟส (metaphase) ซึ่งเป็นระยะที่โครโมโซมมีการหดตัวมากที่สุด ทำให้เห็นโครโมโซมได้ชัดเจน และมีการกระจายตัวที่ดี สามารถนับจำนวนและสังเกตรูปร่างของโครโมโซมได้ชัดเจน ความแตกต่างของโครโมโซมในคารีโอไทป์ สามารถเปรียบเทียบได้จากการทำอิดิโอแกรม (idiogram) ซึ่งเป็นการจัดเรียงโครโมโซมทั้งหมดตามขนาดโครโมโซม หรือแสดงในรูปของกลุ่มโครโมโซมตามรูปร่างโครโมโซม ตำแหน่งเซนโทรเมียร์ (centromere) รวมทั้ง secondary constriction (Dyer, 1979) คารีโอไทป์ที่มีขนาดโครโมโซมใกล้เคียงกันและมีโครโมโซมชนิด metacentric กับ submetacentric chromosome เรียก symmetrical karyotype แต่ถ้าคารีโอไทป์มีขนาดโครโมโซมแตกต่างกันมาก มีทั้งชนิด metacentric submetacentric subtelocentric และ telocentric chromosome เรียกคารีโอไทป์ชนิดนี้ว่า asymmetrical karyotype (Stebbins, 1971)

สำหรับข้าวเริ่มมีการศึกษาเกี่ยวกับโครโมโซมเป็นครั้งแรกใน ค.ศ. 1910 โดยเริ่มจากการศึกษาจำนวนโครโมโซม จากการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส พบว่าข้าว *(Oryza sativa* L.) มีจำนวนโครโมโซม 2n=2x=24 (Kuwada, 1910) เนื่องจากโครโมโซมของข้าวมีขนาดเล็ก ทำให้สังเกตรายละเอียดต่างๆ บนเส้นสายโครโมโซมได้ไม่ชัดเจน ต่อมาได้มีการปรับปรุงเทคนิคในการศึกษาโครโมโซมจนได้วิธีที่เหมาะสมและสามารถศึกษารายละเอียดได้ชัดเจนยิ่งขึ้น พบว่าคารีโอไทป์ของข้าวพันธุ์ป่า (wild type) หรือข้าวพันธุ์พื้นเมือง (native type) แสดงลักษณะเป็น symmetrical karyotype มากกว่าข้าวพันธุ์ปลูก (cultivated type) และข้าวชนิด japonica แสดงลักษณะคารีโอไทป์เป็นแบบ asymmetrical มากกว่าข้าวชนิด indica (Shastry, 1964) ในงานวิจัยนี้ วิเคราะห์สัณฐานวิทยาของข้าวเหนียวดำซึ่งถือว่าเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองชนิดหนึ่งที่ปลูกในประเทศไทยกับพันธุ์ข้าวขาวที่ปลูกทั่วไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการศึกษาที่ห้องปฏิบัติการเซลล์พันธุศาสตร์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ โดยศึกษาสัณฐานวิทยา ของข้าวจำนวน 5 พันธุ์ มีขั้นตอนดังนี้คือ นำเมล็ดข้าวแต่ละพันธุ์มาเพาะบนกระดาษเพาะ ทิ้งไว้ 5-7 วัน เมื่อรากงอกทำการตัดปลายราก 3-5 มิลลิเมตร ใส่ในขวดแก้วขนาดจุ 15 มิลลิลิตรที่มีสารละลาย para-dichlorobenzene บรรจุอยู่เพื่อหยุดการเจริญของเส้นใยสปินเดิลของเซลล์ หลังจากนั้นนำรากออกจากสารละลาย para-dichlorobenzene ล้างรากให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น นำรากไปแช่ไว้ในน้ำยารักษาสภาพเซลล์ (เอทธิลแอลกอฮอล์ 95% และกรดอะซิติกเข้มข้น อัตราส่วน 3 : 1) นาน 5 นาทีแล้วจึงทำการแยกเซลล์ออกจากกัน โดยแช่รากในกรดไฮโดรคลอลิกเข้มข้น 1 *N* ที่อุณหภูมิ 60° เซลเซียส นาน10 นาที หลังจากนั้นล้างรากด้วย น้ำกลั่น และแช่รากในสีย้อม carbol fuchsin นาน 5 ชั่วโมง

เมื่อครบกำหนดระยะเวลาการย้อมสีแล้ว ทำการศึกษาโครโมโซมบนแผ่นสไลด์ โดยใช้เทคนิค squash method นำแผ่นสไลด์ที่ผ่านการเตรียมเซลล์เรียบร้อยแล้วไปศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งเซลล์ในระยะเมตาเฟสและโครโมโซมกระจายไม่ทับกัน ทำการบันทึกภาพ จากนั้นนำรูปถ่ายที่ได้มาศึกษาคารีโอไทป์ จัดรูปร่างโครโมโซม โดยกำหนดตำแหน่งเซนโทรเมียร์ วัดความยาวของแขนโครโมโซมข้างสั้น (Ls) ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (LI) และ ความยาวของโครโมโซมทั้งแท่ง (LT) แล้วนำค่า Ls และ LI มาคำณวนค่า Centomeric index (Cl) โดยคำนวณจากสูตร ดังนี้

$$\text{Centromeric Index (CI)} = \frac{\text{ความยาวของแขนโครโมโซมข้างยาว (LI)}}{\text{ความยาวของโครโมโซมทั้งแท่ง (LT)}}$$

(กันยารัตน์, 2532)

นำค่า CI ที่ได้จากการคำนวณมากำหนดชนิดหรือรูปร่างของโครโมโซม โดยโครโมโซมที่มีค่า CI อยู่ระหว่าง 0.500-1.599 จัดเป็น metacentric chromosome ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.600-0.699 จัดเป็น submetacentric chromosome ค่า Cl อยู่ระหว่าง 0.700-0.899 จัดเป็น subtelocentric choromosome ค่า CI อยู่ระหว่าง 0.900-1.000 จัดเป็น telocentric chromosome แล้วทำการจัดขนาดโครโมโซม โดยจัดแบ่งโครโมโซมออกเป็น 3 ขนาด คือโครโมโซมขนาดใหญ่ (Large=L) ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 1 ซึ่งเป็นคู่ที่ยาวที่สุด โครโมโซมขนาดกลาง (Medium=M) ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ยาวน้อยกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมที่ยาวที่สุดรวมกับโครโมโซมคู่ที่สั้นที่สุด และโครโมโซมขนาดเล็ก (Small=S) ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่มีความยาวน้อยกว่าครึ่งของความยาวเฉลี่ยของโครโมโซมคู่ที่ยาวที่สุด

## ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาสัณฐานวิทยาของข้าวทั้ง 5 พันธุ์ พบว่ามีจำนวนโครโมโซมร่างกายเท่ากันคือ 2n=24 ซึ่งมีค่าเท่ากันกับข้าวพันธุ์อื่นในทุก species ของวงค์นี้ (Hu,1964) แสดงว่าไม่มีความแปรปรวนในจำนวนโครโมโซมร่างกายของข้าวปลูกทั่วไป สำหรับสูตรคารีโอไทป์ของแต่ละพันธุ์วิเคราะห์ได้ดังนี้

เหนียวสันป่าตอง (2n=24) = $L^{m}_{2}+L^{sm}_{6}+M^{m}_{10}+M^{sm}_{2}+S^{m}_{4}$

หอมมะลิ 105 (2n=24) = $L^{m}_{2}+L^{sm}_{2}+L^{st}_{4}+M^{m}_{12}+M^{sm}_{2}+S^{m}_{2}$

เหนียวดำดอยสะเก็ด (2n=24) = $L^{sm}_{4}+M^{m}_{18}+M^{sm}_{2}$

เหนียวดำCMU col.2 (2n=24) = $L^{m}_{4}+L^{sm}_{2}+M^{m}_{12}+M^{sm}_{2}+S^{m}_{2}+S^{sm}_{2}$

เหนียวดำCMU col.3 (2n=24) = $L^{m}_{6}+L^{sm}_{4}+M^{m}_{12}+M^{sm}_{2}$

ส่วนขนาดของโครโมโซมพบว่าพันธุ์ข้าวที่ศึกษามีขนาดโครโมโซมอยู่ในช่วง 0.840 - 0.243 ไมครอน โดยข้าวเหนียวดำ CMU col.2 มีโครโมโซมใหญ่ที่สุด และข้าวหอมมะลิ 105 มีโครโมโซมเล็กที่สุด และโดยเฉลี่ยแล้วโครโมโซมของข้าวเหนียวดำทั้ง 3 พันธุ์จะมีขนาดใหญ่กว่าข้าวเหนียวสันป่าตองและหอมมะลิ 105 (ตารางที่ 1)

ในกลุ่มข้าวขาว (เหนียวสันป่าตองและหอมมะลิ 105) มีขนาดโครโมโซมอยู่ในช่วง 0.671-0.243 ไมครอน ซึ่งเล็กกว่าขนาดโครโมโซมของกลุ่มข้าวเหนียวดำที่มีขนาดอยู่ในช่วง 0.840-0.357 ไมครอน (ตารางที่ 2)

**Table 1 Chromosome length of five rice varieties.**

| varieties / set no. | Chromosome length (micron) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Sanpatong | Mali 105 | Doi Saket | CMU col.2 | CMU col.3 |
| 1 (largest) | 0.671 | 0.650 | 0.744 | 0.840 | 0.634 |
| 2 | 0.587 | 0.575 | 0.643 | 0.708 | 0.609 |
| 3 | 0.517 | 0.559 | 0.563 | 0.679 | 0.598 |
| 4 | 0.468 | 0.532 | 0.563 | 0.599 | 0.543 |
| 5 | 0.424 | 0.435 | 0.562 | 0.576 | 0.528 |
| 6 | 0.396 | 0.430 | 0.557 | 0.561 | 0.503 |
| 7 | 0.368 | 0.408 | 0.474 | 0.552 | 0.502 |
| 8 | 0.348 | 0.375 | 0.468 | 0.496 | 0.466 |
| 9 | 0.348 | 0.348 | 0.462 | 0.444 | 0.416 |
| 10 | 0.331 | 0.337 | 0.453 | 0.444 | 0.410 |
| 11 | 0.323 | 0.328 | 0.408 | 0.399 | 0.402 |
| 12(smallest) | 0.300 | 0.243 | 0.385 | 0.391 | 0.357 |
| Sum | 5.081 | 5.220 | 6.282 | 6.689 | 5.968 |

**Table 2 Comparision of chromosome size between white rice group and purple rice group.**

| Group | Chromosome size (micron) |
|---|---|
| White rice | 0.243 - 0.671 |
| Purple rice | 0.357 - 0.840 |

เมื่อเปรียบเทียบรูปร่างของโครโมโซมข้าวทั้ง 5 พันธุ์พบว่าข้าวเหนียวสันป่าตอง และข้าวเหนียวดำทั้ง 3 พันธุ์ยังคงแสดงลักษณะความเป็นข้าวพันธุ์ "พื้นเมือง" กล่าวคือมีรูปร่างของโครโมโซมแบบ metacentric และ submetacentric ซึ่งเป็นลักษณะแบบ symmetrical karyotype มีเพียงข้าวหอมมะลิ 105 ที่พบโครโมโซมถึง 3 ชนิดคือ metacentric, submetacentric และ subtelocentric ซึ่งเป็นลักษณะของข้าว "พันธุ์ปลูก" ส่วนโครโมโซมที่มีรูปร่างแบบ telocentric นั้น ไม่ตรวจพบในการศึกษาครั้งนี้ (ตารางที่ 3)

**Table 3 Chromosome characteristics of five rice varieties .**

| Varieties | Chromosome size (micron) | | | Chromosome number and karyotype | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Large | Medium | Small | Large | | | | | Medium | | | | | Small | | | | |
| | | | | M | SM | ST | T | Total | M | SM | ST | T | Total | M | SM | ST | T | Total |
| Sanpatong glutinouse | 0.671-0.486 | 0.485-0.336 | 0.335-0.300 | 1 | 3 | 0 | 0 | 4 | 5 | 1 | 0 | 0 | 6 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Mali 105 aglutinous | 0.650-0.447 | 0.446-0.325 | 0.324-0.243 | 1 | 1 | 2 | 0 | 4 | 6 | 1 | 0 | 0 | 7 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Doi Saket purple rice glutinous | 0.744-0.565 | 0.564-0.372 | 0.371-0.000 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 9 | 1 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| CMU col.2 purple rice glutinous | 0.840-0.616 | 0.615-0.420 | 0.419-0.391 | 2 | 1 | 0 | 0 | 3 | 6 | 1 | 0 | 0 | 7 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| CMU col.3 Purple rice glutinous | 0.634-0506 | 0.505-0.317 | 0.316-0.000 | 3 | 2 | 0 | 0 | 5 | 6 | 1 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Remark : M = metacentric chromosome SM = submetacentric chromosome
ST = subtelocentric chromosome T = telocentric chromosome

เมื่อเปรียบเทียบรูปร่างโครโมโซมของกลุ่มข้าวขาวกับกลุ่มข้าวเหนียวดำพบว่ามีรูปแบบที่ต่างกันเป็นลักษณะของข้าวแต่ละกลุ่ม กล่าวคือ ในกลุ่มของข้าวขาว คารีโอไทป์ของโครโมโซมจะสม่ำเสมอ คือโครโมไซม คู่ที่ 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 และ 12 แสดงลักษณะเป็น metacentric ทั้งหมด ส่วนคู่ที่ 1, 2, 3 และ 5 แสดงลักษณะอื่น ในขณะที่ในกลุ่มของข้าวเหนียวดำ คารีโอไทป์ของโครโมโซม แตกต่างกันออกไปในแต่ละพันธุ์จะมีก็เพียงคู่ที่ 5, 7, 9, 10 และ 11 เท่านั้นที่แสดงลักษณะเป็น metacentric เหมือน กันทั้ง 3 พันธุ์ (ตารางที่ 4)

**Table 4 Chromosome karyotype (defined set of chromosome).**

| Varieties | M | SM | ST | T |
|---|---|---|---|---|
| Sanpatong glutinous | 4,6,7,8,9,10,11,12 | 1,2,3,5 | - | - |
| Mali 105 aglutinous | 4,6,7,8,9,10,11,12 | 1,5 | 2,3 | - |
| Doi Saket purple rice glutinous | 3,5,6,7,8,9,10,11,12 | 1,2,4 | - | - |
| CMU col.2 purple rice glutinous | 2,3,4,5,7,8,9,10,11 | 1,12 | - | - |
| CMU col.3 purple rice glutinous | 2,4,5,6,7,9,10,11,12 | 1,3,8 | - | - |

นอกจากนี้ยังพบลักษณะพิเศษของโครโมโซมคู่ที่ 6 ของหอมดอกมะลิและคู่ที่ 12 ของ CMU col.2 ซึ่งแสดงลักษณะรูปร่างเป็น SAT-chromosome ที่ปรากฏลักษณะของติ่ง(sattelite)ที่ยื่นออกมาบริเวณปลายโครโมโซมเพียงแห่งเดียวในโครโมโซมแต่ละคู่

ผลการศึกษาเกี่ยวกับลักษณะสัณฐานวิทยาที่ได้ สรุปได้ว่าข้าวทั้ง 5 พันธุ์ มีความแตกต่างกันในเรื่องของขนาดและรูปร่างโครโมโซม แต่ความแตกต่างที่ได้ไม่สามารถสรุปถึงความสัมพันธ์ระหว่างความแตกต่างของลักษณะสัณฐานวิทยาของข้าวเหนียวดำและข้าวขาวกับความแตกต่างของขนาดและรูปร่างโครโมโซมได้ ทั้งนี้เพราะว่าลักษณะสัณฐานวิทยาของพืชที่ต้นพืชแสดงออกเกิดจากการควบคุมของหน่วยพันธุกรรม (gene) ที่เป็นตัวกำหนดลักษณะต่าง ๆ ของต้นพืช แต่ข้อมูลที่ได้เป็นเพียงข้อมูลประจำลักษณะพันธุ์นั้น ๆ ซึ่งบอกได้แต่เพียงว่า ข้าวทั้ง 5 พันธุ์นั้นมีจำนวนโครโมโซมเท่ากัน ขนาด โครโมโซมและรูปร่างโครโมโซมเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละพันธุ์ และในการศึกษาไม่สามารถระบุตำแหน่งของยีนจากแถบสีชิ้นส่วนของโครโมโซม (banding pattern) ได้ เนื่องจากโครโมโซมของข้าวมีขนาดค่อนข้างเล็กและติดสีย้อมค่อนข้างยาก

## เอกสารอ้างอิง

กันยารัตน์ ไชยสุต. 2532. เซลล์พันธุศาสตร์และเซลล์อนุกรมวิธานของพืชสกุล Zephyranthes. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์-มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 259 หน้า.

ภูวดล บุตรรัตน์. 2528. เทคนิคทางพฤกษศาสตร์. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี. สงขลา. 213 หน้า.

วิสุทธิ์ ใบไม้. 2536. พันธุศาสตร์. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ. 640 หน้า.

Dyer, A.F. 1979. Investigating Chromosomes. Edward Arnold Ltd., London. 208. pp.

Hu, C.H. 1964. Further studies on chromosome morphology of *Oryza sativa* L. in "Rice Genetics and Cytogenetics". p 51-61.

Kuwada, Y. 1910. A cytological study of *Oryza sativa* L. Bot. Mag. Tokyo 24. 267 pp.

Shastry, S.V.S. 1964. A new approach to studies on rice karyomorphology. In "Rice Genetics and Cytogenetics", 1963. Elsevier, Amsterdam. p62-67.

Stebbins, G.L. 1971. Chromosome Evolution in Higher Plants. Addison Wesley Publishing Company. 215 pp.