NU Science Journal 2007; 4(1): 77 - 88

ผลทางเซลล์วิทยาของอะลูมิเนียมในข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1

(*Oryza sativa* L. cv. Suphanburi 1)

นุกูล จงหอมขจร, วิไลภรณ์ บุญญกิจจินดา, สุพรรณญิกา เส็งสาย และวิมล ขวัญเกื้อ*

Cytological effects of aluminium in rice (*Oryza sativa* L. cv. Suphanburi 1)

Nugool Jonghomkajorn, Vilaiporn Bunyakitjinda, Supanyika Sengsai
and Wimol Kwankua*

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
*Corresponding author, E-mail address: wimol@su.ac.th

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของอะลูมิเนียมที่พืชได้รับในรูปของสารละลาย $AlCl_3$ ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 μM ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.5 ในข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 2 กลุ่ม โดยใช้ค่าตัวแปรทางเซลล์วิทยา 2 ตัวแปร ได้แก่ Index of metaphase (I-meta) และค่าความผิดปกติของนิวเคลียสและโครโมโซมใน 1000 เซลล์เป็นตัวชี้วัดความเป็นพิษของอะลูมิเนียม พบว่าระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มทดลอง และระหว่างกลุ่มทดลองที่มีความเข้มข้นของสารละลายอะลูมิเนียมไม่เท่ากันมีอัตราการแบ่งเซลล์(I-meta)ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามในภาพรวมพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายอะลูมิเนียมสูงขึ้นจะมีผลให้ค่า I-meta ในปลายรากมีค่าลดลง โดยกลุ่มทดลองที่ความเข้มข้นของสารละลายอะลูมิเนียม 150 μM มีค่า I-meta ต่ำที่สุดเท่ากับ 3.18% ส่วนในกลุ่มควบคุมที่1 (pH 7.0) และ กลุ่มควบคุมที่ 2 (pH 4.5) มีค่าเท่ากับ 3.75% และ 3.39% ตามลำดับ ส่วนค่าความผิดปกติของนิวเคลียสและโครโมโซมใน 1000 เซลล์ที่มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายอะลูมิเนียมเพิ่มมากขึ้น โดยในกลุ่มทดลองที่ได้รับสารละลายอะลูมิเนียม 150 μM พบความผิดปกติได้สูงสุดเท่ากับ 3.98 ในการทดลองครั้งนี้พบความผิดปกติของโครโมโซมรูปแบบต่างๆ ได้แก่ chromosome bridge, chromosome fragment, laggard chromosome, disturbed chromosome และ micronucleus

คำสำคัญ : อะลูมิเนียม สุพรรณบุรี1 อัตราการแบ่งเซลล์ ความผิดปกติของการแบ่งเซลล์

Abstract

The effects of $AlCl_3$ on germinating seeds of rice (*Oryza sativa* L. cv. Suphanburi1) were investigated. Three dose of $AlCl_3$ treatments (50, 100 and 150 μM) at pH 4.5 were compared with two types of controls. The aluminium toxicity was indicated by two cytological parameters: Index of metaphase (I-meta) and the number of nucleus and chromosome abnormality per 1000 cells. The results did not reveal any significant difference of I-meta on $AlCl_3$ treatments and both controls ($P>0.05$). However, I-meta tended to decrease as the concentration of $AlCl_3$ increased. The lowest I-meta was observed at the 150 μM $AlCl_3$ treatment (3.18 ‰) while 3.75 ‰ and 3.39 ‰ were observed in control 1 (pH 7.0) and 2 (pH 4.5) respectively. It was found that the number of nucleus and chromosome abnormalities per 1000 cells increased when the concentration of $AlCl_3$ increased. Dividing cells from root tip of seven days-old seedling in 150 μM $AlCl_3$ treatment showed the highest number of abnormality per 1000 cells (3.98 ‰). Many types of nucleus and chromosome aberration such as chromosome bridge, chromosome fragment, laggard chromosome, disturbed chromosome, and micronucleus were found.

Keywords : aluminium, Suphanburi1, index of metaphase, chromosome abnormality

บทนำ

อะลูมิเนียมเป็นแร่ธาตุที่พบมากเป็นอันดับ 3 บนพื้นผิวโลก โดยมีการแพร่กระจายอยู่ตามชั้นดินและพื้นผิวดิน ส่วนใหญ่มักปรากฏอยู่ในรูปของสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ เช่น อะลูมิเนียมซิลิเกต อะลูมิเนียมฟอสเฟต และอะลูมิเนียมซัลเฟต เป็นต้น อะลูมิเนียมมักปนเปื้อนมากับอาหารและน้ำ โดยเฉลี่ยร่างกายของคนรับอะลูมิเนียมเข้าไปประมาณ 20-40 มิลลิกรัมต่อคนต่อวัน ซึ่งอะลูมิเนียมดังกล่าวจะมีความเป็นพิษต่อระบบประสาทของมนุษย์ และสัตว์ (Patra *et al.* , 2000; Mohanty *et al.*,2004)

ในพื้นที่ดินเปรี้ยวซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับหรือน้อยกว่า 5 อะลูมิเนียมจะถูกปลดปล่อยออกมาจากดินในรูป Al^{3+} ซึ่งมีความเป็นพิษต่อพืชในหลายระบบ ได้แก่ ผลต่อการเจริญและการทำงานของราก โดยพบว่าอะลูมิเนียมมีผลทำให้การเจริญของรากลดลง และมีผลให้ผนังเซลล์ของรากแข็งขึ้นรากจึงดูดและลำเลียงน้ำได้ไม่เพียงพอถึงแม้จะอยู่ในดินที่มีสภาพชุ่มน้ำก็ตาม พืชจึงเจริญเติบโตและให้ผลผลิตน้อยลง ผลดังกล่าวพบได้ทั้งในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น ข้าวบาเลย์ ข้าวสาลี และพืชขนาดใหญ่ เช่น Acacia เป็นต้น (Krizek *et al.*, 1987; Malathi *et al.*, 2000)

ผลของอะลูมิเนียมต่อโครโมโซมและการแบ่งเซลล์ จากรายงานการศึกษาพบว่าอะลูมิเนียมมีผลรบกวนการแบ่งเซลล์ในพืช ทำให้พบความผิดปกติของโครโมโซมในบริเวณที่มีการแบ่งเซลล์ เช่น ปลายรากและดอก หลายรูปแบบ เช่น ผลการศึกษาในข้าวพันธุ์ Lalat ที่ได้รับอะลูมิเนียม 50 μM มีผลทำให้เกิดความผิดปกติในการแบ่งเซลล์บริเวณปลายราก โดยพบว่าอัตราการแบ่งเซลล์มีค่าลดลง และมีความผิดปกติของโครโมโซมมากกว่ากลุ่มควบคุม รูปแบบของความผิดปกติที่พบได้แก่ chromosome stickiness, laggards chromosome, chromosome bridge, micronuclei, binucleate และ multinucleate cell เป็นต้น Ahmed and Grant (1972) อธิบายว่าอะลูมิเนียมสามารถเพิ่มความถี่ของการเกิด bridge และ fragment ได้เนื่องจากอะลูมิเนียมอิออนจะเข้าจับกับนิวคลีโอโปรตีนที่อยู่ภายในเส้นใยโครมาติน ทำให้โปรตีนดังกล่าวสามารถเกิดพันธะทางเคมีกับโปรตีนที่อยู่ในซิสเตอร์โครมาติด เมื่อเกิดการแยกตัวของโครมาติดจึงมองเห็นเป็น bridge ระหว่างโครโมโซมทั้งสอง ทั้งนี้หากเหตุการณ์ดังกล่าวทำให้เกิดการหักของโครโมติด อาจเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิด chromosome fragment ขึ้น (Mohanty *et al.,* 2004) ชิ้นโครโมโซมดังกล่าวอาจปรากฏอยู่ในลักษณะของ MN ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในเซลล์ระยะอินเตอร์เฟส ส่วนความผิดปกติแบบ disturbed chromosome และการเกิด laggard chromosome ในเซลล์ปลายรากที่ได้รับอะลูมิเนียมเป็นผลมาจากความผิดปกติในการสร้างสายใยสปินเดิลทำให้โครโมโซมบางแท่งเคลื่อนที่ช้าหรือเร็วกว่าโครโมโซมแท่งอื่น ความผิดปกติต่างๆ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากการได้รับอะลูมิเนียมดังกล่าวแล้วนั้นอาจมีผลให้เกิดความเป็นหมันของละอองเรณูมากขึ้นอีกด้วย (Frantzios *et al.,* 2000; Mateuca *et al.*, 2006; Mohanty *et al.*, 2004)

ส่วนผลต่อโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) พบว่าอะลูมิเนียมจะมีผลให้โครงสร้างของดีเอ็นเอเกลียวคู่อยู่ในสภาพที่ไม่สามารถทำหน้าที่เป็นต้นแบบในการจำลองดีเอ็นเอได้ตามปกติ จึงทำให้การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอภายในเซลล์และการแบ่งเซลล์น้อยลง (Rout *et al.*, 2001) อย่างไรก็ตามในพืชบางชนิด เช่น ข้าวโพดและข้าวสาลี พบว่ามีกลไกภายในเซลล์ที่ช่วยลดอันตรายจากผลของอะลูมิเนียมได้ (Kochain, 1995; Matsumoto, 2001) ตัวอย่างการศึกษาในข้าวสาลีสายพันธุ์ near isogenic line 2 สายพันธุ์ที่มีความแตกต่างกันเฉพาะลักษณะความทนทานต่ออะลูมิเนียม พบว่ามียีนเด่น *ALE1* (Al-dependent efflux of malate) ทำหน้าที่สร้าง malate และปลดปล่อยออกจากเซลล์ปลายราก เมื่อ malateเข้าจับกับอะลูมิเนียมอิออนทำให้ความเป็นพิษลดลง (Delhaize *et al.* 1993)

ประเทศไทยมีพื้นที่ดินเปรี้ยวประมาณ 9.4 ล้านไร่ โดยครึ่งหนึ่งของพื้นที่ดังกล่าวพบในเขตที่ลุ่มภาคกลางในเขตจังหวัดต่างๆ ที่มีการปลูกข้าว เช่น ปทุมธานี นครนายก ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา และพระนครศรีอยุธยา เป็นต้น ดินเปรี้ยวที่มีความเป็นกรดจัดมักมีผลทำให้ผลผลิตต่อไร่ของข้าวลดลง (กรมการข้าว, 2550) ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอะลูมิเนียมในสภาวะที่เป็นกรด (pH 4.5) ต่อโครโมโซมและอัตราการแบ่งเซลล์ในปลายราก ตลอดจนการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์

สุพรรณบุรี1 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่ได้รับการส่งเสริมให้ปลูกในทุกเขตภูมิภาคของประเทศไทย (กรมการข้าว, 2550)

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

1. การวางแผนการทดลองและการเตรียมพืชทดลอง

นำเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์สุพรรณบุรี1 (*Oryza sativa* L.) มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวในสารละลาย Clorox 10% เป็นเวลา 30 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง เพาะเมล็ดบนสำลีชุ่มน้ำที่วางในภาชนะปิดซึ่งมีช่องระบายอากาศ ที่อุณหภูมิ 22±2 ^{o}C เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจึงเลือกต้นข้าวที่สมบูรณ์มาทดลอง โดยกำหนดกลุ่มทดลองละ 10 ต้น แต่ละกลุ่มทดลองทำ 3 ซ้ำ

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้กลุ่มควบคุม 2 กลุ่มคือ น้ำกลั่น pH 7.0 และน้ำกลั่น pH 4.5 ส่วนกลุ่มทดลองมี 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มทดลองที่ใช้สารละลาย $AlCl_3$ ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 μM ที่ pH 4.5 โดยแช่ส่วนรากของต้นกล้าข้าวอายุ 7 วันในสารละลายดังกล่าวข้างต้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาจึงนำรากข้าวมาล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วจึงเลี้ยงต้นข้าวต่อใน Hoagland solution เป็นเวลา 3 วันเพื่อให้รากฟื้นตัวและมีการแบ่งเซลล์เพื่อการตรวจสอบขั้นต่อไป

2. การศึกษา Index of metaphase และความผิดปกติของโครโมโซม

ตัดปลายรากต้นกล้าในช่วงเวลา 8.30-9.00 น.ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร แช่ลงในน้ำยาตรึงเซลล์ Canoy's solution เมื่อต้องการศึกษาการแบ่งเซลล์จึงนำปลายรากดังกล่าวมาไฮโดรไลซ์ด้วย HCl ความเข้มข้น 1N ที่ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงเตรียมสไลด์ด้วยเทคนิค squash แล้วย้อมด้วยสีอะซีโตออร์ซีนความเข้มข้น 60 % ตรวจสอบการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสและความผิดปกติของโครโมโซมในรูปแบบต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 1500 เท่า (15x100) โดยใช้ค่าดัชนีต่างๆ เป็นเกณฑ์ในการศึกษา ดังนี้

$$\text{Index of metaphase (I-meta)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่อยู่ในระยะเมทาเฟส}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่ตรวจนับ}} \times 1000$$

$$\text{‰ ความผิดปกติของการแบ่งเซลล์ (MA)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่มีความผิดปกติของโครโมโซมและนิวเคลียส}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่ตรวจนับ}} \times 1000$$

$$‰ \text{ ความผิดปกติแต่ละชนิด} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่มีความผิดปกติชนิดใดชนิดหนึ่ง}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่ตรวจนับ}} \times 1000$$

เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาที่เกิดจากผลของสารที่ใช้ทดสอบซึ่งอาจมีผลให้พบการแบ่งเซลล์ระยะใดระยะหนึ่งในปริมาณมากกว่าปกติ (Ivanova *et. al*, 2005.) ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้ค่าการแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟส (I-meta) เป็นตัวบ่งชี้ว่ามีการแบ่งเซลล์เกิดขึ้นในกลุ่มทดลองมากน้อยเพียงใดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในการศึกษาค่า I- Meta และค่า MA บันทึกผลจากการตรวจนับจำนวนเซลล์ 1000 เซลล์ต่อสไลด์ โดยตรวจสอบ 30 สไลด์ต่อกลุ่มทดลอง จึงมีจำนวนเซลล์ที่ตรวจสอบต่อกลุ่มทดลองรวม 30,000 เซลล์

3. การศึกษาผลของอะลูมิเนียมต่อการเจริญของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1

นำต้นกล้าของข้าวที่ได้รับสารละลาย $AlCl_3$ ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 μM ที่ pH 4.5 และต้นข้าวในกลุ่มควบคุมทั้ง 2 กลุ่มมาปลูกลงดินที่บรรจุในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว ปลูกเลี้ยงไว้ในโรงเรือน ให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ เมื่อต้นข้าวอายุ 2 สัปดาห์จึงให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 เก็บบันทึกจำนวนใบต่อต้น จำนวนต้นต่อกอ และความสูงของต้น เมื่อต้นข้าวอายุ 1 และ 3 สัปดาห์หลังจากปลูก

4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ภายใต้ช่วงความเชื่อมั่น 95% ($\alpha = 0.05$)

ผลการทดลอง

1. การศึกษาอัตราการแบ่งเซลล์

จากการศึกษาค่า I-meta จากเซลล์ปลายรากต้นกล้าอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 พบว่ากลุ่มควบคุมทั้ง 2 กลุ่มมีค่า I-meta ไม่เท่ากัน โดยกลุ่มควบคุมที่ 2 (pH 4.5) มีค่า I-meta ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ 1 (pH 7.0) ส่วนกลุ่มการทดลองที่ความเข้มข้น 50 และ 100 μM $AlCl_3$ มีค่า I-meta สูงกว่ากลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม คือมีค่าเท่ากับ 4.11 และ 3.48% ตามลำดับ (กลุ่มควบคุมที่1 และ 2 มีค่า I-meta เท่ากับ 3.75 และ 3.39%) สำหรับกลุ่มทดลองที่ได้รับ 150 μM $AlCl_3$ มีค่า I-meta ต่ำที่สุดคือ 3.18% โดยต่ำกว่ากลุ่มควบคุมทั้ง 2 กลุ่มและกลุ่มทดลองทุกกลุ่ม เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าค่า I-meta ของกลุ่มควบคุมทั้ง 2 กลุ่มและกลุ่มทดลองทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) ดังตาราง 1

2. การศึกษาความผิดปกติของการแบ่งเซลล์ โครโมโซม และนิวเคลียส

ผลการศึกษาค่า MA และชนิดของความผิดปกติของโครโมโซม แบบต่างๆ ต่อ 1000 เซลล์ พบว่าค่า MA ของกลุ่มควบคุมที่1 มีค่าต่ำที่สุด ส่วนกลุ่มควบคุมที่ 2 และกลุ่มทดลองที่ 50, 100 และ 150 μM $AlCl_3$ มีค่า MA สูงขึ้นเป็นลำดับคือ 0.01, 1.36, 2.23, 3.28 และ 3.98 (ตาราง 1) ผลการทดสอบทางสถิติพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) โดยเฉพาะอย่างยิ่งระหว่างกลุ่มควบคุมทั้ง 2 กลุ่ม กับกลุ่มทดลองที่ 150 μM $AlCl_3$ สำหรับชนิดของความผิดปกติพบว่ามีทั้งการเกิดนิวเคลียสขนาดเล็กๆ (micronucleus, MN) และความผิดปกติของโครโมโซมแบบต่างๆได้แก่ การที่โครโมโซมบางแท่งถูกดึงไปทั้ง 2 ด้าน(chromosome bridge) โครโมโซมที่หักเป็นท่อน(chromosome fragment) โครโมโซมที่เคลื่อนที่ช้ากว่าโครโมโซมอื่นๆ (laggard chromosome) และการที่โครโมโซมถูกรบกวนทำให้การแบ่งเซลล์เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ (disturbed chromosome) ทั้งนี้ปรากฏว่ากลุ่มทดลองทุกกลุ่มมีค่า MA สูงกว่ากลุ่มควบคุมทั้ง 2 กลุ่ม (ตาราง 1) โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระหว่างกลุ่มควบคุมที่ 1 (pH 7.0) และกลุ่มทดลองที่ 150 μM $AlCl_3$ โดยภาพรวมพบว่าค่า MA มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย $AlCl_3$ เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าค่า MA จากเซลล์ปลายรากในกลุ่มควบคุมที่ 2 (pH 4.5) มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ 1 (pH 7.0)

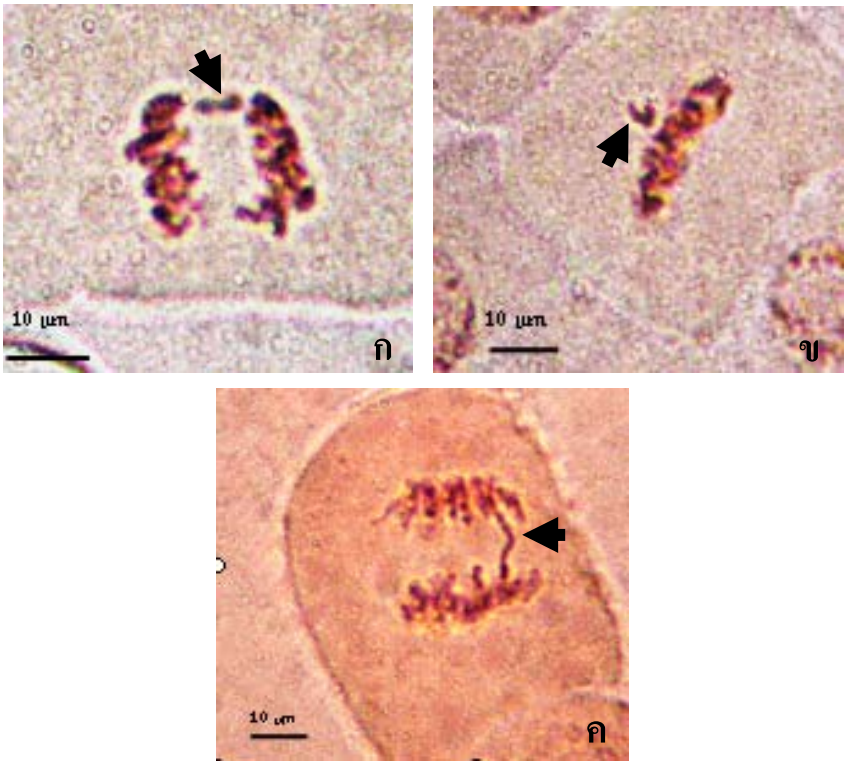
ตาราง 1 Index of Metaphase, Mitotic abnormalities และ Type of chromosome abnomalities (/1000 cells) ในเซลล์ปลายรากของต้นกล้าอายุ 7 วันของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 หลังแช่ปลายรากในสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 μM

Treatments	I-Meta (‰±SE)	MA (‰±SE)	Type of chromosome abnormalities(/1000 cells)				
			MN	B	F	L	D
กลุ่มควบคุมที่ 1 (pH 7.0)	3.75±0.36[a]	0.01±0.11[a]	-	0.10	-	-	-
กลุ่มควบคุมที่ 2 (pH 4.5)	3.39±0.06[a]	1.36±0.43[ab]	0.03	0.19	-	0.26	0.84
50 μM $AlCl_3$	4.11±0.12[a]	2.23±0.58[bc]	-	0.37	-	0.22	1.64
100 μM $AlCl_3$	3.84±0.20[a]	3.28±0.53[cd]	0.22	0.45	0.08	0.31	2.21
150 μM $AlCl_3$	3.18±0.31[a]	3.98±0.40[d]	0.18	1.05	0.35	0.35	2.06

[1] I-Meta = index of metaphase, MA = mitotic abnormality, MN= micronucleus, B = chromosome bridge, F= chromosome fragment, L= laggard chromosome , D= disturbed chromosome

[2] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย DMRT ภายใต้ช่วงความเชื่อมั่น 95% ($\alpha = 0.05$)

ผลการศึกษาชนิดของความผิดปกติที่พบในการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส พบว่าในกลุ่มควบคุมที่ 1 (pH 7.0) มีความผิดปกติเกิดขึ้นเพียงชนิดเดียวคือ chromosome bridge ส่วนกลุ่มควบคุมที่ 2 (pH 4.5) ตรวจพบความผิดปกติ 4 ชนิด ได้แก่ MN, chromosome bridge, laggard chromosome และ disturbed chromosome สำหรับในกลุ่มทดลองที่ได้รับสารละลาย $AlCl_3$ ความเข้มข้นต่ำ (50 µM) พบความผิดปกติ 3 ชนิด ได้แก่ chromosome bridge, laggard chromosome และ disturbed chromosome ในขณะที่กลุ่มทดลองที่ได้รับสารละลาย $AlCl_3$ ความเข้มข้นสูง (100, 150 µM) สามารถตรวจพบความผิดปกติของการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสและความผิดปกติของโครโมโซมได้ทุกชนิดที่ศึกษา ได้แก่ MN, chromosome bridge, chromosome fragment, laggard chromosome และ disturbed chromosome ตัวอย่างความผิดปกติที่พบแสดงในรูป 1



รูป 1 ความผิดปกติของโครโมโซม (ลูกศรชี้) ในรูปแบบต่างๆ ที่พบในเซลล์ ปลายรากที่ได้รับสารละลาย $AlCl_3$ ความเข้มข้นต่างๆ

ก. laggard chromosome ที่ 100 µM $AlCl_3$

ข. disturbed chromosomeที่ 50 µM $AlCl_3$

ค. chromosome bridge ที่ 150 µM $AlCl_3$

จากรูป 1 ก. Laggard chromosome แสดงลักษณะโครโมโซมที่เคลื่อนที่ช้ากว่าโครโมโซมอื่นในระหว่างการแบ่งเซลล์ซึ่งเกิดขึ้นในระยะ early telophase ส่วนรูป 1 ข. แสดง disturbed chromosome ในระยะ metaphase จะสังเกตเห็นโครโมโซมบางแท่งไม่เข้ารวมกลุ่มกับโครโมโซมอื่น และรูป 1 ค. แสดง chromosome bridge ที่เกิดขึ้นในระยะ late anaphase

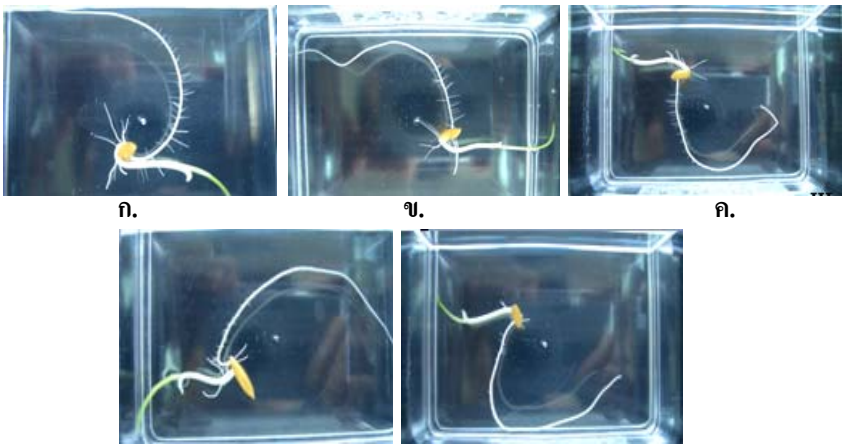
3. การศึกษาผลของอะลูมิเนียมต่อการเจริญของต้นข้าว

จากการศึกษาจำนวนใบต่อต้น จำนวนต้นต่อกอ และความสูงของต้นข้าวที่ได้รับสารละลาย $AlCl_3$ ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 μM ในสัปดาห์ที่ 1 และ 3 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าโดยส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุม (ตาราง 2) เมื่อสังเกตการเจริญของรากภายหลังได้รับสารละลายอะลูมิเนียม พบว่าต้นกล้าในกลุ่มควบคุมที่ 1 (pH 7.0) มีการแตกแขนงของรากมากกว่าต้นกล้าในกลุ่มควบคุมที่ 2 (pH 4.5) ส่วนในกลุ่มทดลองพบว่าทุกกลุ่มทดลองมีการแตกแขนงของรากน้อยกว่าต้นกล้าในกลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม โดยต้นกล้าที่ได้รับอะลูมิเนียมความเข้มข้นสูงๆ จะมีการแตกแขนงของรากน้อยกว่าต้นกล้าที่ได้รับอะลูมิเนียมความเข้มข้นต่ำ (รูป 2)

ตาราง 2 ค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้น จำนวนต้นต่อกอ และความสูงของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 อายุ 1 และ 3 สัปดาห์ภายหลังจากได้รับสารละลาย $AlCl_3$ ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 μM ที่ pH 4.5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Treatments	จำนวนใบต่อต้น สัปดาห์ที่		จำนวนต้นต่อกอ สัปดาห์ที่		ความสูง (ซม.) สัปดาห์ที่	
	1	3	1	3	1	3
กลุ่มควบคุมที่1 pH 7.0	3.00±0.00[a]	7.40±0.37[a]	1±0.00[a]	1.80±0.20[a]	19.51±0.25[a]	40.06±1.28[a]
กลุ่มควบคุมที่2 pH 4.5	3.00±0.00[a]	7.30±0.44[a]	1±0.00[a]	1.80±0.25[a]	18.67±0.38[a]	39.73±0.63[a]
50 μM$AlCl_3$	2.90±0.10[a]	6.50±0.39[a]	1±0.00[a]	1.80±0.20[a]	17.01±1.30[a]	37.70±1.15[a]
100 μM $AlCl_3$	3.00±0.00[a]	7.30±0.34[a]	1±0.00[a]	1.90±0.28[a]	19.80±1.00[a]	40.39±1.45[a]
150 μM $AlCl_3$	2.90±0.10[a]	6.20±0.25[a]	1±0.00[a]	1.40±0.19[a]	20.77±0.75[a]	39.63±0.97[a]

[1] เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย DMRT ภายใต้ช่วงความเชื่อมั่น 95% ($\alpha = 0.05$)



รูป 2 แสดงการเจริญของรากของต้นกล้าข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 ที่ได้รับสารละลาย $AlCl_3$ ความ เข้มข้นต่างๆ (ก. น้ำกลั่น pH 7.0, ข. น้ำกลั่น pH 4.5, ค.50 µM $AlCl_3$, ง. 100 µM $AlCl_3$, จ. 150 µM $AlCl_3$)

ค.

สรุปและวิจารณ์

จากการศึกษาผลของอะลูมิเนียมต่อการแบ่งเซลล์ในปลายรากของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 ปรากฏว่าค่า I-meta มีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย $AlCl_3$ เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมพบว่ากลุ่มควบคุมที่ pH 4.5 มีค่า I-meta ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ pH 7.0 ผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นอิทธิพลของค่าความเป็นกรด-ด่างต่อการแบ่งเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับการ ศึกษาผลของอะลูมิเนียมในข้าวพันธุ์ Lalat (Mohanty *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้พบว่าค่า I-meta ในปลายรากต้นกล้าที่ได้รับสารละลาย 50 µM และ 100 µM $AlCl_3$ มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมทั้งสองกลุ่ม ซึ่งเป็นไปได้ว่าเป็นผลการตอบสนองเชิงบวกต่ออะลูมิเนียมของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 เนื่องจากมีรายงานว่าข้าวบางพันธุ์จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อได้รับอะลูมิเนียมความเข้มข้นต่ำๆ (George, 1996)

ในการทดลองครั้งนี้พบความผิดปกติของเซลล์ที่กำลังแบ่งตัว ตลอดจนความผิดปกติของนิวเคลียสและโครโมโซมในรูปแบบต่างๆ เกิดขึ้นหลายรูปแบบ ได้แก่ การเกิด MN, chromosome bridge, laggard chromosome, chromosome fragment และ disturbed chromosome โดยพบว่าความผิดปกติของโครโมโซมมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลาย $AlCl_3$ เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าในการทดลองครั้งนี้จะพบการเกิด chromosome fragment ในกลุ่มทดลองที่ได้รับสารละลาย $AlCl_3$ ความเข้มข้นสูงๆ เท่านั้น (100 และ 150 µM) จึงเป็นไปได้ว่าอะลูมิเนียม อิออนใน

ปริมาณที่สูงสามารถทำให้เกิดพันธะทางเคมีระหว่างนิวคลีโอโปรตีนได้มากขึ้นจึงพบการเกิด chromosome fragment ได้มากขึ้นด้วย (Ahmed and Grant, 1972) จากผลการทดลองซึ่งพบว่าในกลุ่มควบคุมที่ pH 4.5 พบค่าความผิดปกติของโครโมโซมและนิวเคลียสได้สูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ pH 7.0 ชี้ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างนอกจากจะมีผลต่อการแบ่งเซลล์ดังกล่าวแล้วข้างต้น ยังมีผลต่อความผิดปกติของโครโมโซมและนิวเคลียสด้วยเช่นกัน (Mohanty *et al.*, 2004)

ผลจากศึกษาการเจริญเติบโตทางสรีระของต้นข้าวซึ่งพิจารณาจากจำนวนใบต่อต้น ความสูงของต้น และจำนวนต้นต่อกอ พบว่าแม้ว่าการได้รับอะลูมิเนียมที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 μM จะก่อให้เกิดความผิดปกติของอัตราการแบ่งเซลล์ ตลอดจนสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมในรูปแบบต่างๆ ในเซลล์ปลายรากของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 ได้ก็ตาม แต่ความผิดปกติที่เกิดขึ้นนี้ยังไม่รุนแรงจนมีผลให้การเจริญของต้นข้าวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม จึงเป็นไปได้ว่าความทนทานต่อความผิดปกติที่เป็นผลจากการได้รับอะลูมิเนียมดังกล่าวมีสาเหตุมาจากพันธุกรรมของพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดลอง (Kochain, 1995; Matsumoto, 2001)

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองครั้งนี้กับการทดลองของ Mohanty *et al.* (2004) อาจกล่าวได้ว่าข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 มีความทนทานต่ออะลูมิเนียมได้ดีกว่าข้าวพันธุ์ Lalat เนื่องจากพบว่าความเข้มข้นของสารละลาย $AlCl_3$ที่มีผลให้ค่า I-meta มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในการทดลองครั้งนี้ได้แก่ ความเข้มข้น 150 μM $AlCl_3$ ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่สูงของ $AlCl_3$ ที่ทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ในข้าวพันธุ์ Lalat มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แสดงว่าการได้รับอะลูมิเนียมความเข้มข้นต่ำๆ ไม่สามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์ในปลายรากของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 ได้ แต่การแบ่งเซลล์จะถูกยับยั้งเมื่อได้รับสารละลายอะลูมิเนียมความเข้มข้นสูงๆ (150 μM) เท่านั้น (Delhaize *et al.*, 1993; Doncheva *et al.,* 2005) และเมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นเดียวกันของสารละลาย $AlCl_3$ (50 μM) พบว่าความผิดปกติของโครโมโซมและนิวเคลียสที่พบในเซลล์ปลายรากของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 (2.23‰) ยังมีค่าต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับความผิดปกติที่พบในข้าวพันธุ์ Lalat (33.33%) นอกจากนี้ยังพบว่าการได้รับอะลูมิเนียมความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบในครั้งนี้ไม่ส่งผลรุนแรงต่อการเจริญของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 เช่นที่ปรากฏในข้าวพันธุ์ Lalat

เอกสารอ้างอิง

กรมการข้าว. (2550). *การจัดการดินและปุ๋ยในดินที่มีปัญหา.* Retrieved January, 30, 2007, from http://www.ricethailand.go.th/rkb/data_004/rice.html

Ahmed, M. and Grant, W.F. (1972). Cytological effects of the mercurial fungicide, Panogen 15 on *Tradescantia* and *Vicia faba* root tips. *Mutat. Res.*, *14*, 391-403.

Delhaize, E., Craig, S., Beaton, C.D., Bennet, R.J., and Randall, P.J. (1993). Aluminium tolerance I n wheat (*Triticum aestivum* L.) : I. Uptake and distribution of aluminium in root apices. *Plant Physiol.*, *103*, 685-693.

Doncheva, S., Amenos, M., Poschenrieder, C., and Barcelo, J. (2005). Root cell patterning: a primary target for aluminium toxicity in maize. *J. Exp. Bot.*, *55*(414), 1213-1220.

Frantzios, G., Galatis, B., and Apostolakos, P. (2000). Aluminium effects on microtubule organization in dividing root-tip cells of *Triticum turgidum*. I. Mitotic cells. *New phyt. 145*(2), 211-224.

Foy, C.D. (1992). *Soil chemical factors limiting plant root growth*. *In*: Hatfield, J.L., Stewart, B.A.(eds.), *Advances in soil sciences: Limitations to plant root growth*. Springer-Verlag, New York, *19*, 97.

George, W. (1996). *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Department of Entomology, University of Arizona. USA., 2-20.

Ivanova, E., Staikona, T.A. and Velcheva, I. (2005). Cytogenetic testing of heavy metal and cyanide contaminated river waters in a mining region of Southwest bulgaria. *J. Cell and Mol. Biol., 4,* 99-106.

Kochian, L.V. (1995). Cellular mechanisms of aluminium toxicity and resistance in plants. *Annu.Rev. Plant Physiol.*, *46*, 237-260.

Krizek, D.T., and Foy, C.D. (1987). Water stress: role in differential aluminium tolerance in barley genotype. *Am. Soc. Agron. Abstr*., 181.

Malathi, N., Sarethy, I.P. and Paliwal, K. (2000). Effects of aluminium on hydroponically grown *Acacia nilotica* seedlings. *J. Plant Biol.*, *28,* 105

Matsumoto, H. (2000). Cell biology of aluminium toxicity and tolerance in higher plants. *Int. Rev. Cytol.*, *200,* 1-46.

Masumoto, H., Morisuma, S. and Takahashi, E. (1997). Binding of aluminium to DNA of DNP (deoxyribonucleoprotein) in pea root nuclei. *Plant Cell Physiol.*, *18*, 987-995.

Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P.V., Decordier, I. and Kirsch-Volders, M. (2006). Chromosomal changes: induction, deletion methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*, *88*, 1515-1531.

Mohanty, S., Das, A.B., Das, P. and Mohanty, P. (2004). Effect of a loe dose of aluminium on mitotic and meiotic activity, 4C DNA content, and pollen sterility in rice, *Oryza sativa* L. cv. Lalat. Ecotoxi. Envi. Safe., *59*, 70-75.

Patra, I., Baisakhi, B., Mohapatro, M.K. and Panda, B.B. (2000). Aluminium triggers genotoxic adaptation to methyl mercuric chloride and ethyl methane sulfonate, but not to maleic hydrazide in plant cells in vivo. Mutat. Res.

Rout, G.R., Samantaray, S. and Das, P. (2001). Aluminium toxicity in plants: A review. *Agonomie*, *21*, 3-21.