

ผลของภาวะเค็มต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงและการเจริญเติบโตในข้าวสายพันธุ์ทนเค็มที่ได้จากประชากร CSSL

Effect of Salt Stress on Photosynthesis and Growth in Salt-tolerant Rice Lines Obtained from CSSL Population

พนิตา ชุติมานุกุล¹, อัญชลี ใจดี¹, ธีรพงษ์ บัวบุชา², มิชชัย เชียงหลิว³, ธีรยุทธ ตูจจินดา³, ศุภจิตรา ชัชวาลย์¹ และ บุญธิดา โฆษิตทรัพย์^{1*}

Panita Chutimanukul¹, Anchalee Chaidee¹, Teerapong Buaboocha², Meechai Siangliw³, Theerayut Toojinda³, Supachitra Chadchawan¹ and Boonthida Kositsup^{1*}

¹หน่วยปฏิบัติการวิจัยสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์; ²ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330; ³หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

¹Environment and Plant Physiology Research Unit, Dept. of Botany; ²Dept. of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330; ³Rice Gene Discovery Unit, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Kasetsart University, Kamphangsaen Campus, Nakhonpathom 73140

*Corresponding author: Boonthida.K@chula.ac.th

บทคัดย่อ

ข้าวที่ได้รับการแทนที่บางส่วนจากโครโมโซม (CSSL) ที่ 1 บริเวณระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM212 and RM3362 จากข้าวพันธุ์ DH212 และมีพื้นฐานทางพันธุกรรมคล้ายคลึงกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) ได้แก่ ข้าวสายพันธุ์ CSSL 10, 11, 12, 16, 26 และ 27 ได้ถูกคัดเลือกเพื่อศึกษาการตอบสนองต่อภาวะเค็มมาก และภาวะเค็มจัดมาก โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบกับข้าวพันธุ์ Pokkali IR29 และ KDML105 พบว่า ในภาวะเค็มมาก ข้าวสายพันธุ์ CSSL 10, 12, 16 และ 27 มีอัตราการสังเคราะห์สูงสุด (A_{max}) เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับพันธุ์ Pokkali ซึ่งเป็นพันธุ์ตรวจมาตรฐานทนเค็ม ส่วนในภาวะเค็มจัดมาก หลังจากการให้ภาวะเค็มเป็นเวลา 18 วัน พบว่าทุกพันธุ์/สายพันธุ์มี A_{max} ลดลง จากข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่าโครโมโซมที่อยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM1003 และ RM3602 น่าจะเกี่ยวข้องกับกลไกการรักษาระบบการสังเคราะห์ด้วยแสงในภาวะเค็มมาก

ABSTRACT

The chromosomal substitution lines (CSSL) with various regions between RM212 and RM3362 markers coming from DH212 and having the 'KDML105' rice genetic background, CSSL 10, 11, 12, 16, 26 and 27, were selected for evaluation of photosynthesis response to high salt stress and extremely high salt stress conditions in comparison with 'Pokkali', 'IR29', and 'KDML105' rice. CSSL 10, 12, 16 and 27 had increased maximum photosynthetic rate (A_{max}) in the high salt stress condition similar to what found in Pokkali, the standard check for salt tolerant rice. After 18 days in extremely high salt stress condition, all plant lines exhibited the reduction in A_{max} . These data suggested that the region between RM1003 and RM3602 may involve in the maintenance of photosynthetic system in high salt stress.

คำสำคัญ: ข้าว, ขาวดอกมะลิ105, อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง, ภาวะเค็ม

Keywords: *Oryza sativa* L., KDML105, photosynthetic, salt stress

บทนำ

ภาวะดินเค็มเป็นปัจจัยจำกัดการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช (photosynthesis) พืชที่อยู่ในภาวะความเครียดจากเกลือจะมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง อัตราการคายน้ำ ความหนาแน่นของปากใบ (stomatal density) และการชักนำการเปิดปิดของปากใบ (stomatal conductance) ลดลงกว่าในพืชที่อยู่ในภาวะปกติ

โครงการการพัฒนาประชากรข้าวเพื่อใช้ในการศึกษาความทนแล้ง ได้พัฒนาสายพันธุ์ข้าวโดยย้ายชิ้นส่วนพันธุกรรมของพันธุ์ทนแล้ง DH212 บนโครโมโซมที่ 1 ที่อยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล (SSR marker) RM212 และ RM5310 สู่อณูพันธุกรรมของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และเรียกประชากรนี้ว่า Chromosomal segment substitution lines (CSSL) (ธีรยุทธ ตูจันดา และคณะ, 2555) ส่วนของโครโมโซมที่ 1 บริเวณดังกล่าวมีส่วนที่สร้างลักษณะทนเค็มรวมอยู่

จากการศึกษาเบื้องต้นด้วย co-expression network ของยีนที่มีการแสดงออกในภาวะเครียดทางกายภาพ พบว่าตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงของเครื่องหมายโมเลกุลอยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM7594 และ RM3442 และยีนที่เป็น node คือ Os01g64960 ซึ่ง encode ให้ Chlorophyll A-B binding protein (ดังรูปที่ 1) งานวิจัยนี้มีเป้าหมายในการทดสอบผลของภาวะเครียดที่เกิดจากความเค็มต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง และการเจริญเติบโต

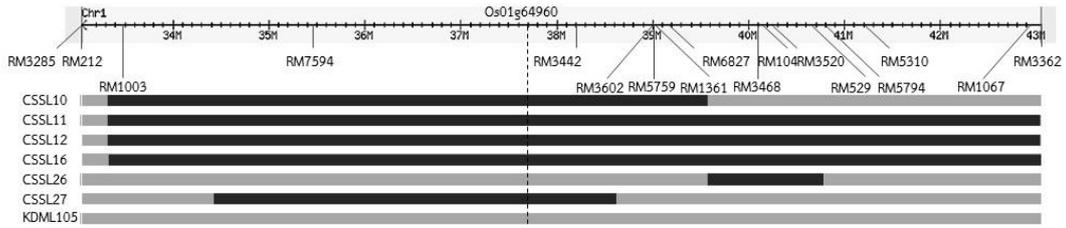
อุปกรณ์และวิธีการ

เพาะต้นข้าวจำนวน 9 พันธุ์/สายพันธุ์ คือ KDML105 (background genome) IR29 (พันธุ์มาตรฐานไม่ทนเค็ม) Pokkali (สายพันธุ์มาตรฐานทนเค็ม) ข้าวในกลุ่มประชากร CSSL ที่มีชิ้นส่วนขนาดต่าง ๆ ของโครโมโซมที่ 1 จำนวน 6 สายพันธุ์ (ธีรยุทธ ตูจันดา และคณะ, 2550) ได้แก่ สายพันธุ์ CSSL10, 11, 12, 16, 26 และ 27 โดยแต่ละสายพันธุ์มีการแทนที่ของชิ้นส่วนโครโมโซมในแต่ละตำแหน่งที่แตกต่างกัน (รูปที่ 1) เมื่อข้าวอายุ 30 วันหลังการเพาะเมล็ด เติมน้ำเกลือ (NaCl) เข้มข้น 0, 75, และ 150 mM วัดอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงโดยใช้เครื่อง Portable photosynthesis system (Li-6400, LI-COR, Lincoln, NE, USA) ประเมินคะแนนความเสียหายของต้นข้าวจากเกลือ (Salt injury score; SIS) ตามวิธีการของ IRRI (2002) ที่เวลา 0, 6, 12 และ 18 วัน หลังจากได้รับภาวะเค็ม โดยคะแนน 1 หมายถึงทนเค็ม และคะแนน 9 หมายถึงอ่อนแอ และวัดการเติบโตได้แก่ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสดต้น (%FW) และน้ำหนักแห้งส่วนต้น (%DW) ในวันที่ 18 หลังจากได้รับภาวะเค็ม

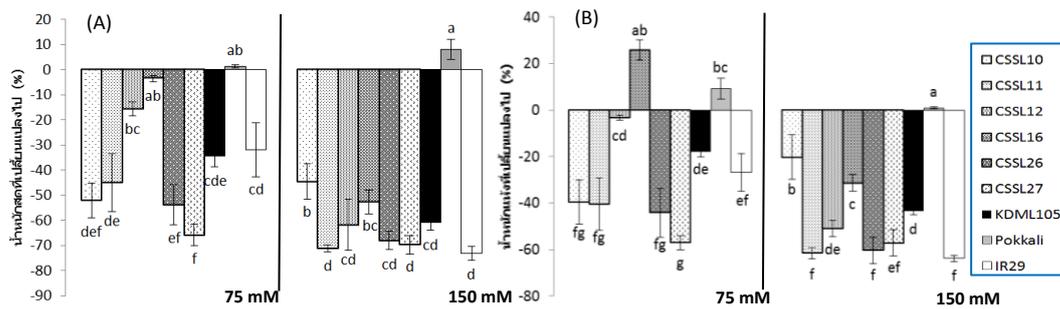
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. CSSL16 ทนเค็มมากที่สุด ในขณะที่ CSSL10 ทนเค็มจัดมากที่สุด

เมื่อต้นข้าวได้รับภาวะเค็มมาก (ความเข้มข้น NaCl 75 mM ความเค็มดิน 8 dSm⁻¹) หรือภาวะเค็มจัดมาก (ความเข้มข้น NaCl 150 mM ความเค็มดิน 18 dSm⁻¹) เป็นเวลา 18 วัน ข้าวทุกพันธุ์/สายพันธุ์ มี %FW ลดลงจากภาวะปกติ (0 mM NaCl) ยกเว้นพันธุ์ Pokkali ในกลุ่ม CSSL ที่ทำการศึกษาในภาวะเค็มมาก CSSL16 มี %FW ลดลงน้อยกว่า KDML105 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ ในภาวะเค็มจัดมาก CSSL10 สามารถรักษาน้ำหนักสดได้ดีกว่า KDML105 (รูปที่ 2A) ผลการทดลองจาก %DW ก็ให้ผลสอดคล้องกัน (รูปที่ 2B) ซึ่งยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shereen และคณะ (2007) ซึ่งทำการทดลองการตอบสนองของข้าวที่อยู่ในภาวะเค็ม พบว่าเมื่อความเข้มข้นเกลือสูงขึ้นข้าวมี %FW และ %DW ลดลง สำหรับค่า SIS เป็นไปในทำนองเดียวกับ %FW และ %DW โดยข้าวพันธุ์ Pokkali เมื่ออยู่ในภาวะเค็มมากและเค็มจัดมากเป็นเวลา 18 วัน มีค่า SIS ต่ำที่สุดคือ 2.75 และ 4.75 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามในงานวิจัยของ Kanjoo (2011) ซึ่งมีการตอบสนองของข้าวพันธุ์ Pokkali ซึ่งไม่แตกต่างจากการทดลองนี้ พบว่าข้าวสายพันธุ์ CSSL11 มีค่า SIS ต่ำที่สุด



รูปที่ 1 แผนภาพแสดงส่วนของโครโมโซมที่ 1 ในประชากร CSSL ที่มีส่วนของโครโมโซมที่ 1 คาดว่ามียีนทนเค็ม (กล่องสีดำ) ตำแหน่งเส้นประแสดงตำแหน่งของยีน *Chlorophyll A-B binding protein* ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM7594 และ RM3442



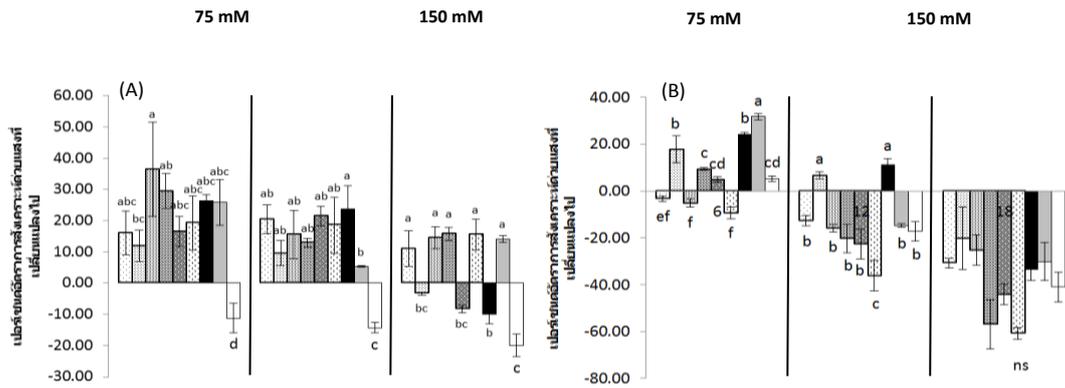
รูปที่ 2 ความเข้มข้นเกลือที่ NaCl ที่ระดับ 75 และ 150 mM ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักสดต้นที่เปลี่ยนแปลงไป (A) และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งต้นที่เปลี่ยนแปลงไป (B)

2. ข้าว CSSL10, CSSL12, CSSL16 และ CSSL27 มีการเปลี่ยนแปลงอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงเนื่องจากภาวะเค็มมากคล้ายคลึงกับข้าวพันธุ์ Pokkali

ความเค็มมาก (8 dSm^{-1}) มีผลต่อทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสูงสุด (A_{max}) ของทุกพันธุ์/สายพันธุ์ ที่ทำการศึกษามีค่าสูงขึ้นในช่วง 12 วันแรกหลังจากการได้รับภาวะเค็ม ยกเว้นพันธุ์ IR29 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อความเค็มที่พบว่ามี A_{max} ลดลง ส่วนในวันที่ 18 หลังจากได้รับภาวะเค็มมาก พบว่า ข้าวพันธุ์ KDML105 ข้าวสายพันธุ์ CSSL11 และ CSSL26 มีค่า A_{max} ลดลงเช่นเดียวกับข้าวพันธุ์ IR29 ซึ่งแตกต่างจากข้าวพันธุ์ Pokkali และสายพันธุ์ CSSL10 CSSL12 CSSL16 และ CSSL27 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 3A)

ชิ้นส่วนของยีนทนเค็มจากโครโมโซมที่ 1 ที่ปรากฏใน CSSL10, CSSL12, CSSL16 และ CSSL27 คือส่วนของโครโมโซมที่อยู่ระหว่าง RM1003 และ RM3602 โดยบริเวณดังกล่าวครอบคลุม node gene ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสง คือ *Os01g64960* (รูปที่ 1) อย่างไรก็ตาม CSSL11 ก็มีส่วนของยีนบริเวณดังกล่าวเช่นกัน แต่มีการตอบสนองที่แตกต่างไป ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิด recombination ในส่วนของยีนบริเวณนั้น หรือการเกิด recombination ในบริเวณอื่นใน genome ที่ส่งผลต่อการตอบสนองของ A_{max}

ในภาวะเค็มจัดมาก (รูปที่ 3B) ในช่วง 6 วันหลังจากได้รับภาวะเค็ม ข้าวพันธุ์ Pokkali IR29 KDML105 และสายพันธุ์ CSSL 11 CSSL16 และ CSSL26 มีค่า A_{max} สูง ในขณะที่ CSSL10 CSSL12 และ CSSL27 มีค่า A_{max} ลดลง อย่างไรก็ตาม ค่า A_{max} ของทุกพันธุ์/สายพันธุ์ มีค่าลดลงและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติหลังจากได้รับภาวะเค็มจัดมากเป็นเวลา 18 วัน ซึ่งเมื่อผ่านช่วงเวลานี้แล้วข้าวส่วนใหญ่มีเนื้อเยื่อใบแห้ง จนไม่สามารถทำการศึกษารังการสังเคราะห์ด้วยแสงได้ ความเข้มข้นสูงมากทำให้ต้นข้าวเกิดการยับยั้งการสังเคราะห์แสงเนื่องจากผลของความเค็มทำให้ใบพืชขาดน้ำโดยเกิดจากการสะสมเกลือภายใน apoplast (Khan et al., 1997) รวมถึงในใบพืชที่มีปริมาณของคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ลดลงภายใต้ภาวะเค็ม (Kennedy และ De Fillippis, 1999) ความสัมพันธ์ระหว่างระหว่างอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงและน้ำหนักแห้งส่วนต้นของต้นข้าวที่ได้รับภาวะเค็มเป็นเวลา 18 วัน ที่ระดับความเข้มข้น NaCl 0, 75 และ 150 mM พบว่าไม่สัมพันธ์กัน



รูปที่ 3 เปรียบเทียบการตอบสนองของพืชต่อความเค็มที่เปลี่ยนแปลงไป ต่อความเข้มข้น NaCl ที่ระดับ 8 dSm⁻¹ (A) และ 19 dSm⁻¹ (B)

สรุปผลการทดลอง

ในระยะต้นของการได้รับภาวะเค็มข้าวในประชากร CSSL ทุกสายพันธุ์มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสูงสุดเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการสังเคราะห์ของต้นที่ไม่ได้รับภาวะเค็ม ข้าว CSSL10, 12, 16 และ 27 มี A_{max} เพิ่มขึ้นหลังจากได้รับภาวะเค็มมากเป็นเวลา 18 วัน ซึ่งคล้ายคลึงกับข้าวพันธุ์ Pokkali ส่วนของโครโมโซมที่ 1 ซึ่งอยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM1003 และ RM3602 น่าจะเกี่ยวข้องกับการรักษาระบบการสังเคราะห์ด้วยแสงในภาวะเค็มมาก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนายพนวิชัยพงศ์ เครือสาร นางสาวฝนทิพย์ หนูทอง นายอาสาพิทะ พัฒนธราและอาจารย์ ดร. วราลักษณ์ เกษตรวานันท์ งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสวทช. (รหัสโครงการ P-12-01235)

เอกสารอ้างอิง

ธีรยุทธ ตูจินดา, Jonaliza L. Siangliw, กาญจนา ปัญญาแวง และ ไวกจน์ กันจู. Development of Single QTL near Isogenic line (NILs) of KDML105 drought tolerance. 2555. ใน รายงานการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรม. ณ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ จังหวัดปทุมธานี

IRRI. Standard evaluation system for rice (SES). 2ed., Los Banos, Philippines. 2002

Kennedy BF and Fillippis DL. Physiological and oxidative response to NaCl of the salt tolerant *Grevillea ilicifolia* and the salt sensitive *Grevillea arenaria*. *Journal of Plant Physiology*. 1999; 155:746–754.

Kanjoo V, Earakongman S, Punyawaew K, Toojinda T. Co-location of quantitative trait loci for drought and salinity tolerance in rice. *Thai Journal of Genetics*. 2011;4:126-138.

Khan MSA, Hamid A, Salahuddin ABM, Quasem A, Karim MA. Effect of sodium chloride on growth, photosynthesis and mineral ions accumulation of different types of rice (*Oryza sativa* L.) *Journal of Agronomy and Crop Science*. 1997;179:149 -161.

Shereen A, Ansari RU, Yasmin S, Raza S, Mumtaz S, Khan MA, Mujtaba SM. Physiological responses of rice(*Oryza Sativa* L.) to saline stress. *Pakistan Journal of Botany*. 2007;39:2527-2534.