

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

กลไกทางสรีระและโมเลกุลที่กำหนดสมรรถภาพในการ
ใช้ธาตุเหล็กในพันธุ์ข้าวไทย

ผู้เขียน

นางสาวรัตญา ยานะพันธุ์

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) พีชไร์

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ศ.ดร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม ประธานกรรมการ
รศ.ดร. ศันสนีย์ จำจด กรรมการ

บทคัดย่อ

การขาดธาตุเหล็กเป็นปัญหาที่สำคัญในการปลูกข้าวไร่และนาข้าวไร่ที่ไม่มีการขังน้ำ เพราะความเป็นประโยชน์ของธาตุเหล็กในดินต่ำ และไม่เพียงพอต่อการดูดใช้ เมื่อข้าวขาดธาตุเหล็กจะส่งผลให้ข้าวสร้างผลผลิตลดลง ซึ่งในประเทศไทยพื้นที่ปลูกข้าวส่วนใหญ่ประมาณ 75% ปลูกอยู่บนพื้นที่ชลประทานซึ่งไม่สามารถควบคุมน้ำได้และไม่มีการขังน้ำในพื้นที่นาโดยเฉพาะ ช่วงเวลาที่ฝนทิ้งช่วง ซึ่งอาจเกิดการขาดธาตุเหล็กขึ้นได้ แต่อย่างไรก็ตามพืชจะมีการพัฒนากลไก ในการหาธาตุเหล็กเมื่ออยู่ในสภาวะขาดธาตุเหล็ก ซึ่งความสามารถในการทนทานต่อการขาดธาตุ เหล็กในแต่ละพันธุ์กรรมมีความแตกต่างกัน และความต่างนั้นสามารถวัดได้จากสมรรถภาพ ในการใช้ธาตุเหล็กของพืชที่จะเจริญเติบโตได้ดีในดินที่ขาดธาตุเหล็กสำหรับพันธุ์มาตรฐาน ดังนั้น การทราบกลไกทางสรีระและโมเลกุลที่กำหนดสมรรถภาพในการใช้ธาตุเหล็กในพันธุ์ข้าวไทยจะ ช่วยคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่มีสมรรถภาพในการใช้ธาตุเหล็กซึ่งจะลดการสูญเสียผลผลิตจากการขาด ธาตุเหล็กในข้าวได้

การทดลองนี้ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร และภาควิชาพีชไร์ คณะ เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่เดือนกันยายน พ.ศ. 2543 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2547 โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 การทดลอง ในการทดลองที่ 1 เพื่อคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่มี ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่แล้วสูงและต่ำกว่าพันธุ์ตรวจสอบ โดยใช้พันธุ์/ สายพันธุ์ข้าว 39 พันธุ์/สายพันธุ์ (มีพันธุ์ข้าวต่างประเทศ 3 พันธุ์) และใช้พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์ตรวจสอบ ปลูกในกระบะทรายรดด้วยสารละลายธาตุอาหารสูตรของ Kimura B ที่ไม่ใส่ ธาตุเหล็ก การทดลองที่ 2 เพื่อศึกษากลไกการตอบสนองทางสรีระต่อสมรรถภาพในการดูดธาตุ

เหล็ก โดยใช้พันธุ์ข้าวไทย 5 พันธุ์ จากการคัดเลือกพันธุ์ในการทดลองที่ 1 ได้แก่ พันธุ์หอมพิษณุโลก 1 พันธุ์กข 10 พันธุ์หอมภูพาน พันธุ์เจ้าเหลือง 11 และพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์ตรวจสอบ และให้สารละลายธาตุอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของธาตุเหล็ก 2 ระดับ คือ 0 ppm (Fe0) และ 3.5 ppm (Fe3.5) ส่วนการทดลองที่ 3 เพื่อศึกษากลไกการตอบสนองระดับโมเลกุลต่อสมรรถภาพในการดูดธาตุเหล็ก มีสองการทดลองย่อย ใช้พันธุ์ข้าวสาลี 1 พันธุ์ คือ พันธุ์ฝาง 60 และพันธุ์ข้าวไทย 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์หอมพิษณุโลก 1 และพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 โดยให้สารละลายธาตุอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของเหล็ก 2 ระดับ คือ 0 ppm (Fe0) และ 3.5 ppm (Fe3.5) การทดลองที่ 3.1 มีรูปแบบการปลูก 6 รูปแบบ คือ 1.) พันธุ์หอมพิษณุโลก 1 2.) พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 3.) พันธุ์ฝาง 60 4.) พันธุ์หอมพิษณุโลก 1 ปลูกร่วมกับพันธุ์ฝาง 60 5.) พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ปลูกร่วมกับพันธุ์ฝาง 60 6.) พันธุ์หอมพิษณุโลก 1 ปลูกร่วมกับพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ส่วนการทดลองที่ 3.2 มีรูปแบบการปลูก 5 แบบ คือ 1.) พันธุ์หอมพิษณุโลก 1 2.) พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 3.) พันธุ์ฝาง 60 4.) พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ปลูกร่วมกับพันธุ์ฝาง 60 5.) พันธุ์หอมพิษณุโลก 1 ปลูกร่วมกับพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 โดยเก็บข้อมูล ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่แล้ว จำนวนหน่อต่อต้น น้ำหนักแห้งของต้น น้ำหนักแห้งของราก ปริมาณความเข้มข้นของธาตุเหล็กในส่วนต่างๆ ปริมาณธาตุเหล็กในส่วนต่างๆ และสมรรถภาพในการดูดธาตุเหล็ก

ในการศึกษาได้รวบรวมพันธุ์ข้าวเพื่อคัดเลือกพันธุ์ข้าวไทยที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่แล้วสูงและต่ำกว่าพันธุ์ตรวจสอบ พบว่าพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่แล้วสูงกว่าพันธุ์ตรวจสอบมี 5 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ชิวลาว พันธุ์จอนแดง พันธุ์ PRE 87003-1-3-1-1 พันธุ์กข 10 และพันธุ์หอมพิษณุโลก 1 ส่วนพันธุ์ที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่แล้วต่ำกว่าพันธุ์ตรวจสอบ ได้แก่ พันธุ์หอมภูพาน และพันธุ์เจ้าเหลือง 11

จากการศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่แล้ว สมรรถภาพในการดูดธาตุเหล็ก และผลผลิตของข้าวแต่ละพันธุ์ สามารถจัดจำแนกการตอบสนองตามการสร้างผลผลิตได้ ดังนี้ ข้าวพันธุ์หอมพิษณุโลก 1 เป็นพันธุ์ที่มีสมรรถภาพในการใช้ธาตุเหล็กแบบไม่มีการตอบสนอง (Iron efficient non-responders) คือผลผลิตในสภาพขาดธาตุเหล็กและได้รับธาตุเหล็กพอเพียงสูงและไม่ต่างกัน พันธุ์ที่มีสมรรถภาพในการใช้ธาตุเหล็กแบบมีการตอบสนอง (Iron efficient responders) ได้แก่ พันธุ์กข 10 และพันธุ์หอมภูพาน ซึ่งมีผลผลิตในสภาพขาดธาตุเหล็กสูงและจะเพิ่มขึ้นเมื่อธาตุเหล็กพอเพียง ส่วนพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 และพันธุ์เจ้าเหลือง 11 เป็น

พันธุ์ที่ไม่มีสมรรถภาพในการใช้ธาตุเหล็กแบบมีการตอบสนอง (Iron inefficient responders) คือ มีผลผลิตในสภาพขาดธาตุเหล็กต่ำและเมื่ออยู่ในสภาพขาดธาตุเหล็กพอเพียงจะมีผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งการจัดจำแนกดังกล่าวสอดคล้องกับสมรรถภาพในการดูดธาตุเหล็ก และปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่แล้ว โดยข้าวพันธุ์หอมพิษณุโลก 1 มีสมรรถภาพในการดูดธาตุเหล็กสูงในสภาพขาดธาตุเหล็ก และมีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่แล้วในสภาพขาดธาตุเหล็กไม่ต่างจากที่ได้รับธาตุเหล็กพอเพียง

การศึกษากลไกการปลดปล่อยสารไฟโตซิเดโรฟอรัส (phytosiderophores) ซึ่งน่าจะเป็นกลไกอีกกลไกหนึ่งของสมรรถภาพการใช้ธาตุเหล็กในข้าวพันธุ์หอมพิษณุโลก 1 โดยสามารถวัดได้จากการถ่ายถอดความมีสมรรถภาพการใช้ธาตุเหล็กสู่พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกร่วมกัน และน่าจะเป็นไปในทางเดียวกันกับการปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ร่วมกับข้าวสาลีพันธุ์ฝาง 60 ซึ่งที่ระยะ 30 วันหลังย้ายปลูก จากทั้งสองการทดลองพบว่าข้าวสาลีพันธุ์ฝาง 60 และข้าวพันธุ์หอมพิษณุโลก 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ทนต่อการขาดธาตุเหล็ก สามารถช่วยให้ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่เป็นพันธุ์อ่อนแอต่อการขาดธาตุเหล็ก มีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่แล้วและมีสมรรถภาพในการดูดธาตุเหล็กในสภาพขาดธาตุเหล็กสูงขึ้น นอกจากนั้นพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกร่วมกับพันธุ์ฝาง 60 และพันธุ์หอมพิษณุโลก 1 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่แล้วและสมรรถภาพในการดูดธาตุเหล็กไม่ต่างกันทั้งในสภาพขาดธาตุเหล็กและได้รับธาตุเหล็กพอเพียง ส่วนที่ระยะเริ่มสร้างตาดอกปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่แล้วและสมรรถภาพในการดูดธาตุเหล็กเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับที่ระยะ 30 วันหลังย้ายปลูก จากผลการทดลองแสดงว่าข้าวสาลีพันธุ์ฝาง 60 และข้าวพันธุ์หอมพิษณุโลก 1 มีความสามารถทำให้สมรรถภาพในการดูดธาตุเหล็กของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เพิ่มขึ้นจริง ซึ่งแสดงว่าข้าวพันธุ์หอมพิษณุโลก 1 และข้าวสาลีพันธุ์ฝาง 60 มีกลไกการปลดปล่อยสารไฟโตซิเดโรฟอรัสเหมือนกับในพืชตระกูลหญ้าอื่นๆ

จากการทดลองทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าข้าวพันธุ์หอมพิษณุโลก 1 เป็นพันธุ์ที่มีความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กมากกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อการขาดธาตุเหล็ก เพราะพันธุ์หอมพิษณุโลก 1 มีกลไกในการทนต่อการขาดธาตุเหล็กดังนี้คือ มีสมรรถภาพในการดูดและใช้ธาตุเหล็กสูง และมีกลไกที่สามารถเพิ่มความเข้มข้นของธาตุเหล็กในดินและข้าวสามารถดูดธาตุเหล็กไปใช้ได้ นั่นคือกลไกการปลดปล่อยสารไฟโตซิเดโรฟอรัส

ดังนั้นการพบพันธุ์ข้าวที่มีสมรรถภาพในการใช้ธาตุเหล็กสูงและทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กจากการศึกษาครั้งนี้เช่น พันธุ์หอมพิษณุโลก 1 จะเป็นประโยชน์ต่อการปลูกข้าวในพื้นที่ที่มี

ปัญหาการขาดธาตุเหล็กในดิน และมีประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ข้าวที่ทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก โดยมีผลผลิตสูงและเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค แต่อย่างไรก็ตามในอนาคตควรมีการทดสอบเพื่อหากลไกในการปลดปล่อยสารไฟโตเคโรโพรของข้าวพันธุ์ที่ทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กโดยวิธี HPLC เพื่อยืนยันผลการทดลองอีกครั้ง



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Physiological and Molecular Basis for Iron Efficiency in Thai Rice Genotypes	
Author	Miss Rataya Yanaphan	
Degree	Master of Science (Agriculture) Agronomy	
Thesis Advisory Committee	Prof. Dr. Benjavan Rerkasem	Chairperson
	Assoc. Prof. Dr. Sansanee Jamjod	Member

Abstract

Iron (Fe) deficiency is a major problem in upland rice and also rice grown without irrigation (non submerged soil). In these two conditions availability of iron is low and may be inadequate for the rice plant. Availability of Fe is especially low in alkaline soils. Iron deficiency causes chlorosis and decreases grain yield. In Thailand, 75% of rice cultivating area lacks irrigation and water control to keep the soil submerged through out the growing season, so that iron deficiency may occur. To overcome iron deficiency, plants have evolved various adaptive mechanisms to acquire Fe from the soil solution. Iron efficiency is defined as an ability of plant to grow well in iron soil deficient in Fe for standard genotypes. Genotypic variation in Fe efficiency has been found in many plant species, but so far no information is available in rice. Therefore, this study set out to evaluate responses to Fe deficiency in Thai rice, and explore the physiological and molecular basis for iron efficiency. Four experiments were conducted at Multiple Cropping Center and Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University and carried out from September 2000 to February 2004. Plants were grown in sand culture with Kimura B solution. Experiment 1 evaluated 39 rice genotypes, with KDML 105 as check, in the nutrient solution without added Fe. In experiment 2, five rice genotypes, PSL 1, RD 10, Hom-Pu-Pan, Jao-Leaung 11 and KDML 105 (check) from the preliminarily screening in experiment 1 were grown in sand

culture with two levels of applied iron (0 ppm (Fe₀) and 3.5 ppm (Fe_{3.5})). Experiment 3.1 and 3.2 explored the possibility of the presence of phytosiderophores in PSL1 through transferability of its Fe efficiency to Fe inefficient KDML 105 plants growing near by. Wheat, a species known to produce phytosiderophores, is included for comparison. The two rice genotypes, PSL 1 and KDML 105, and one wheat genotype, Fang 60, were grown together in pairs in the same pot and separately in sand culture with two levels of applied iron (0 and 3.5 ppm). In experiment 3.1, there were 6 treatments as follows: 1) PSL 1 2) KDML 105 3) Fang 60 4) PSL 1 + Fang 60 5) KDML 105 + Fang 60 6) PSL 1 + KDML 105. In experiment 3.2, rice varieties were grown in sand culture with two levels of applied iron (0, 3.5 ppm) in Kimura B solution with 5 treatment as following: 1) PSL 1 2) KDML 105 3) Fang 60 4) KDML 105 + Fang 60 5) PSL 1 + KDML 105. In these two experiments measurements included YEB chlorophyll content, tiller plant⁻¹, shoot dry weight plant⁻¹, root dry weight plant⁻¹, Fe concentration in all plant part, Fe content in all plant part and Fe uptake efficiency.

Rice genotypes grown without added Fe in experiment 1 were found to have a wide range chlorophyll content in the youngest emerged blade (YEB). Five genotypes, Siw-Lao, Jon-Dang, PRE 87003-1-3-1-1, PSL 1 and RD 10 had higher YEB chlorophyll content than KDML 105. In addition, two rice genotypes, Hom-Pu-Pan and Jao-Leaung 11 had lower YEB chlorophyll content than KDML 105.

In addition to the chlorophyll content in their YEB, genotypes also differed in their Fe uptake and yield responses. The Thai rice genotypes were classified into 3 response groups as follows: 1. Iron efficient non-responder (PSL 1) produced high grain yield at Fe₀ but did not respond to iron addition. 2. Iron efficient responders (Hom-Pu-Pan and RD 10) produced high grain yield at Fe₀ and respond to iron addition. 3. Iron inefficient responders (KDML 105 and Jao-Leaung 11) produced low grain yield at Fe₀ and had a high response to iron addition. The classification as mention related to iron uptake efficiency and YEB chlorophyll content. PSL 1 had high iron uptake efficiency in Fe₀ and YEB chlorophyll content in Fe₀ that was similar to Fe_{3.5}.

The possibility that some phytosiderophores may be the basis for Fe efficiency in PSL 1 was indicated by the transfer of Fe efficiency to KDML 105 growing in the same pot in the same way as that from Fang 60 wheat, known phytosiderophores produces, to the rice. At 30 days after transplanting, it was found that Fang 60 and PSL 1 were able to increase YEB chlorophyll content and iron uptake efficiency in KDML 105 at Fe0. Besides, KDML 105 grown with Fang 60 and PSL 1 had YEB chlorophyll content and iron uptake efficiency in Fe0 similar to those in Fe3.5. At PI stage, the result was similar to that at 30 days after transplanting. It is clear that the Fe uptake in KDML 105 was enhanced in the presence of Fang 60 and PSL 1. The presence of phytosiderophores is strongly suggested, as it has been established in graminaceous.

This study has identified PSL 1 as the most Fe efficient and most tolerant to iron deficiency, much more so than the widely grown KDML 105. The mechanisms for tolerance to iron deficiency include efficiency Fe uptake and utilization efficiency. The presence of phytosiderophores is strongly suggested as the Fe uptake efficiency, confirmation with HPLC is highly recommended.