

Thesis Title	Salt-tolerant Indices Development Through Ion Homeostasis Defensive Mechanisms in Thai Rice Varieties (<i>Oryza sativa</i> L. spp. <i>indica</i>)
Author	Miss. Thippawan Trakunyingcharoen
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Prasartporn Smitamana Chairperson Dr. Suriyan Cha-Um Member

ABSTRACT

Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the major important staple foods as a primary source calories uptake for world population, especially in Asia. Nowadays, soil salinity was one of the critical environmental stresses which effected on plant growth and productivity in terms of osmotic stress and ionic stress. Ion homeostasis is one of the vital mechanisms for plant survival by compartmentalizing excess cytosolic sodium ions into the vacuoles to prevent cell damage through tonoplast Na^+/H^+ antiporter (*NHX*) which was energized by membrane proton pumps. In this study, activity of various enzymes, *OsNHX* transcription level, and physiological characteristics of rice during sodium chloride stress were determined. The activity of vacuolar pyrophosphatase (V-PPase) and plasma membrane adenosine triphosphatase (P-ATPase) could play a major role, while, vacuolar adenosine triphosphatase (V-ATPase) might be a minor role in salt tolerant capability in both leaf and root of all

rice varieties. Furthermore, the vacuolar Na^+/H^+ antiporter was one of many defense mechanisms to maintain ionic balance during salt stress. The expression level of four isoforms of *OsNHX* were determined by quantitative real-time RT-PCR and the results showed that *OsNHX1* and *OsNHX3* transcripts may play an important role for tolerance to salt in rice leaf especially *OsNHX1*. Interestingly, the expression level of all *OsNHX* isoforms in leaf was found to be higher than root during salinity stress. In addition, under salinity environment, the degree of induction of *OsNHX1* transcript in root was stronger than leaf. Moreover, this investigation showed that salt stress induced the water potential (Ψ_w) reduction in both root and leaf of all rice varieties especially in salt sensitive rice (IR29) while salt tolerance rice (Pokkali) effectively maintained root water potential during salt stress. The degradation of photosynthetic pigments was found in all rice varieties especially in IR29, KDML105 and PT1 rice. The pigments concentration maintenance was effectively determined in Pokkali and Homjan rice. Taken together, these results suggested that KDML105 and Pathumthani1 utilized the same mechanism to fight against salt as the salt sensitive rice same as IR29 while Homjan and Pokkali responded to NaCl with similar processes.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาดัชนีบ่งชี้ความสามารถทนเค็มผ่านระบบ บิออนโสมิโอสเตซิสในข้าวสายพันธุ์ไทย (<i>Oryza sativa</i> L. spp. <i>indica</i>)
ผู้เขียน	นางสาวทิพวรรณ ตระกูลยิ่งเจริญ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. ประสาทพร สมิตะมาน ประธานกรรมการ ดร. สุริยันตร์ ละอ่อม กรรมการ

บทคัดย่อ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นหนึ่งในพืชอาหารหลักและเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญที่หล่อเลี้ยงประชาคมโลกโดยเฉพาะในเอเชีย ทุกวันนี้ดินเค็มเป็นอีกหนึ่งความเครียดจากสภาพแวดล้อมที่ส่งผลให้เกิดภาวะเครียดจากการขาดน้ำและความ เป็นพิษของอิออนซึ่งส่งผลกระทบต่อ การเติบโตและผลผลิตของพืช Ion homeostasis เป็นกลไกหนึ่งที่สำคัญสำหรับพืชในการปรับตัวเพื่ออยู่รอดภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็ม โดยการเคลื่อนย้ายโซเดียมอิออนส่วนเกินจากไซโตพลาสซึมมา เก็บสะสมในแวคิวโอผ่านทางโปรตีน tonoplast Na^+/H^+ antiporter ซึ่งถูกควบคุมการสร้างโดยยีน *NHX* และการทำงานของ antiporter นี้ยังได้รับพลังงานจาก proton pumps ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มต่างๆภายในเซลล์ ในการทดลองนี้มุ่งเน้นศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ระดับการแสดงออกของยีน *NHX* แต่ละไอโซฟอร์ม และลักษณะทางสรีระที่มีการเปลี่ยนแปลงภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็ม จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในรากและใบของข้าวทุกสายพันธุ์พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ vacuolar pyrophosphatase (V-PPase) และ plasma membrane adenosine triphosphatase (P-ATPase) มีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อความเค็มในขณะที่เอนไซม์

vacuolar adenosine triphosphatase (V-ATPase) มีบทบาทน้อยกว่ากิจกรรมของเอนไซม์ข้างต้น สร้างพลังงานให้กับ vacuolar Na^+/H^+ antiporter ในการรักษาสมดุลของอิออนภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็ม จากการศึกษาระดับการแสดงออกของยีน *OsNHX* ทั้งสี่ไอโซฟอร์มด้วยเทคนิค quantitative real-time RT-PCR พบว่า การแสดงออกของ *OsNHX1* และ *OsNHX3* มีบทบาทสำคัญต่อความสามารถทนเค็มในข้าว โดยเฉพาะ *OsNHX1* มีระดับการแสดงออกสูง ภายใต้สภาวะเครียดจากความเค็มในใบของข้าวทุกสายพันธุ์ นอกจากนี้ ระดับการแสดงออกของยีนทุกไอโซฟอร์ม *OsNHX1* *OsNHX2* *OsNHX3* และ *OsNHX5* พบในใบสูงกว่ารากและยีน *OsNHX1* ถูกกระตุ้นให้แสดงออกได้สูงสุดในข้าวทุกสายพันธุ์ นอกจากนี้สภาวะเครียดจากความเค็มยังส่งผลกระตุ้นการลดลงของค่า water potential (Ψ_w) ในข้าวทุกสายพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในข้าวสายพันธุ์ไม่ทนเค็ม (IR29) ส่วนข้าวสายพันธุ์ทนเค็ม (POK) มีประสิทธิภาพสูงในการรักษาระดับ Ψ_w ภายใต้สภาวะความเค็ม การลดลงของค่า Ψ_w ส่งผลให้รวงข้าวที่จำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลงในข้าวทุกสายพันธุ์ โดยเฉพาะในข้าวสายพันธุ์ IR29 KDML105 และ PT1 ส่วนข้าวสายพันธุ์ POK และ HJ มีประสิทธิภาพในการรักษาระดับความเข้มข้นของรงควัตถุเมื่อตอบสนองต่อความเค็ม อาจกล่าวได้ว่า KDML105 และ PT1 ใช้กลไกต่อสู้กับความเค็มเหมือน ข้าวสายพันธุ์ไม่ทนต่อความเค็ม IR29 ส่วน HJ ใช้กลไกเดียวกับข้าวสายพันธุ์ทนต่อความเค็ม POK