Thesis Title **The Mechanism Controlling Boron Efficiency in Wheat Genotypes**

Author **Miss Duangjai Nachiangmai**

Degree **Doctor of Philosophy (Agronomy)**

Thesis Advisory Committee:

Professor Dr. Benjavan Rerkasem	**Chairperson**
Associate Professor Dr. Sansanee Jamjod	**Member**
Associate Professor Dr. Bernie Dell	**Member**
Associate Professor Dr. Richard W Bell	**Member**

ABSTRACT

Boron (B) deficiency is a widespread problem causing sterility and loss of grain yield in wheat in sub-tropical Asia including Thailand. Some B-efficient wheat genotypes, able to grow well in low B soils, have been identified, but the mechanisms that control efficiency are unknown. The aim of the thesis is to define the mechanism (s) controlling B efficiency in wheat.

Wheat genotypes were evaluated for B efficiency in sand culture under low B. Results have clearly shown that boron efficiency classification in wheat genotypes may be improved by considering other parameters (e.g. flag leaf B at full boot stage, relative B response in the number of grains spike^{-1} and grains spikelet^{-1}) as well as grain set index (GSI) without added B. The genotypes were classified into four B efficiency classes: these were efficient (E: Fang 60 and Sonora 64), moderately

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

inefficient (MI: 922-211 and CMU 88-9), inefficient (I: Schomburgk, SW 41 and 922-276) and very inefficient (VI: Kite and Bonza). In addition, root growth in SW 41 was sensitive to B deficiency, but low B in solution culture had no effect on vegetative growth in Fang 60.

In sand culture at four B rates (0, 0.1, 0.33 and 10 μM B), Fang 60 at low solution B maintained a higher B concentration (greater than 5.7 mg kg^{-1} B) in the ear. Inefficient and very inefficient cultivars had much lower B concentration in the ear (eg. 1.8-3.9 mg kg^{-1} in Bonza). CMU 88-9 at low solution B generally retained a higher proportion of whole plant B in the root. This suggests that Fang 60 exhibits B efficiency because of greater partitioning of B into the ear, allowing it to maintain high GSI even at low B supply. Poor B transport in CMU 88-9 from root to shoot may account for its low B efficiency.

In order to examine the role of B in anther development, B-efficient (Fang 60) and B-inefficient (SW 41) genotypes were grown in solution culture with either adequate supply or withholding B during the critical stage of pollen development (premeotic interphase to young microspore). Withholding adequate B during the critical stage depressed pollen viability at anthesis in the B-inefficient wheat cultivar (SW 41) by 40-70%, produced abnormal pollen wall separation in young microspores, and resulted in the disappearance of mitotic nuclei. The low B treatment had no effect on any of these pollen characteristics in Fang 60. Low B did not impair starch accumulation and the mature pollen contained cytoplasm and organelles.

To determine whether differences in B transport and retranslocation can explain cultivar differences in B efficiency between B-efficient (Fang 60) and B-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

inefficient (SW 41) genotypes. Plants were grown with adequate ^{11}B (10 μM), until the premeiotic interphase stage in anther development, then transferred into ^{10}B at 0.1 or 10 μM B. After five days, ending at the young microspore stage, plants were returned to adequate ^{11}B. Plants were harvested at 0, 1 and 5 days after transferring into ^{10}B. When B supply was low, total shoot B did not differ between Fang 60 and SW 41. By contrast, the proportion of plant B partitioned into the ear of Fang 60 was almost twice as high as that in SW 41, enabling Fang 60 to maintain B concentration in the ear at 6.8 mg kg^{-1} dry weight (DW), whereas it dropped to 3.8 mg kg^{-1} DW in SW 41. Boron accumulation in the ear, when external supply was restricted, did not come from the ^{11}B previously taken up by the plant. The greater ^{10}B accumulation in ears of Fang 60 compared to SW 41, with limited external supply, indicated that B efficiency was associated with xylem transport of B. The greater increase of ^{10}B:^{11}B ratio in the ear of Fang 60 compared to SW 41, over the 5 days of B interruption further indicated that greater B efficiency was associated with a stronger capacity for long distance transport of B from the rooting medium into the ear via the xylem rather than from retranslocation of B in the phloem.

The greater ability of Fang 60 to distribute B into the developing ear under low B during the critical stage of microsporogenesis suggest that this ability is the main mechanism for B efficiency in wheat. By contrast, there was no evidence of greater B uptake into shoot by B-efficient cultivars, neither was there evidence of B retranslocation into the ear under low B during the critical stage of microsporogenesis. Further work is needed to explain how efficient cultivars, like Fang 60, are able to allocate extra B into the ear.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ กลไกควบคุมสมรรถภาพการใช้โบรอนในข้าวสาลี

ผู้เขียน นางสาว ดวงใจ ณ. เชียงใหม่

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (พืชไร่)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ศาสตราจารย์ ดร.เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม	ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. ศันสนีย์ จำจด	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. เบอร์นี่ เดล	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. ริชาร์ด เบล	กรรมการ

บทคัดย่อ

การขาดธาตุโบรอนทำให้ข้าวสาลีเป็นหมันและสูญเสียผลผลิต ซึ่งเป็นปัญหาที่พบแพร่หลายในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้, เอเชียใต้ รวมทั้งประเทศไทย ปัจจุบันได้พบพันธุ์ที่ทนทานต่อการมีโบรอนต่ำในดิน แต่กลไกที่ทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้ดีภายใต้สภาวะขาดโบรอนยังไม่ทราบ ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการหาคำอธิบายว่ากลไกที่ควบคุมสมรรถภาพการใช้โบรอนของข้าวสาลีมีอะไรบ้าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะเจริญพันธุ์ซึ่งพืชจะอ่อนแอต่อการขาดธาตุโบรอนอย่างมาก

การปลูกข้าวสาลีในทรายและให้สารละลายธาตุอาหารโบรอนในระดับต่าง ๆ กัน พบว่าสามารถแบ่งสมรรถภาพการใช้ธาตุโบรอนในข้าวสาลีได้สี่ระดับ คือ ระดับสูงมากในพันธุ์ Fang 60 และ Sonora 64, สูงปานกลางในพันธุ์ 922-211 และ CMU 88-9, ระดับต่ำใน พันธุ์ Schomburgk, SW 41 และ 922-267 ส่วนพันธุ์ Kite และ Bonza มีสมรรภถาพการใช้โบรอนในระดับที่ต่ำมาก และยังพบว่าค่าความสัมพันธ์ของจำนวนเมล็ดต่อรวงและจำนวนเมล็ดต่อช่อดอกย่อย ที่ได้จากโบรอนต่ำหารด้วยโบรอนสูง (B0/B10) รวมทั้งปริมาณโบรอนในใบธงในระยะตั้งท้องอาจใช้พิจารณาร่วมกับดัชนีการติดเมล็ดที่ได้จากโบรอนต่ำ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการจำแนก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สมรรถภาพการใช้ธาตุโบรอนในพันธุ์ข้าวสาลีได้ นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างในสมรรถภาพการใช้โบรอนในระยะเจริญเติบโตทางลำต้นและใบระหว่าง Fang 60 และ SW 41 เมื่อปลูกในสารละลายที่มีโบรอน 4 ระดับ คือ 0, 0.25, 0.5, 1, 10 ไมโครโมลาร์ โดยการเจริญของรากจะเป็นตัวบ่งชี้การตอบสนองต่อโบรอนต่ำในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบได้ ในขณะที่การเจริญของยอดในทั้งสองพันธุ์ไม่ตอบสนองต่อโบรอนต่ำ

การทดลองในทรายโดยให้โบรอน 4 ระดับคือ 0, 0.1, 0.33 และ 10 ไมโครโมลาร์ พบว่า ในสภาพโบรอนต่ำ พันธุ์ทน Fang 60 สามารถรักษาระดับความเข้มข้นของโบรอนในรวงไว้ได้มากกว่า 5.7 mg kg^{-1} ส่วนพันธุ์ที่มีสมรรถภาพการใช้โบรอนต่ำและต่ำมากมีความเข้มข้นโบรอนในรวงน้อยมาก เช่น 1.8 – 3.9 mg kg^{-1} ในพันธุ์ Bonza และยังพบว่าภายใต้สภาพขาดโบรอนพันธุ์ CMU 88-9 เก็บโบรอนไว้ในรากเป็นสัดส่วนที่มากกว่าเมื่อเทียบกับส่วนประกอบอื่น ๆ ของต้น ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า Fang 60 มีการลำเลียงโบรอนเข้าไปในรวงได้เก่งกว่าทำให้มีดัชนีการติดเมล็ดที่สูงเมื่อมีโบรอนต่ำ และสมรรถภาพการใช้โบรอนที่ต่ำในพันธุ์ CMU 88-9 น่าจะเกี่ยวข้องกับปัญหาในการลำเลียงโบรอนจากรากขึ้นไปสู่ยอด

พันธุ์ที่ทนต่อสภาวะขาดโบรอน Fang 60 และ พันธุ์ที่ไม่ทน SW 41 ถูกใช้ทดสอบหาบทบาทของโบรอนในพัฒนาการเกสรตัวผู้ในข้าวสาลีทั้งสองพันธุ์ โดยปลูกในสารละลายที่มีโบรอนเพียงพอ คือ 10 ไมโครโมลาร์ จนถึงระยะ premeiotic interphase ของกระบวนการสร้างละอองเรณู ซึ่งถือว่าเป็นระยะที่เริ่มถูกกระทบจากการขาดโบรอนจนเป็นสาเหตุให้การติดเมล็ดของข้าวสาลีล้มเหลว จึงได้ย้ายพืชทั้งสองพันธุ์ไปเลี้ยงในสารละลายที่ สองระดับความเข้มข้นโบรอน คือ 0.1 และ 10 ไมโครโมลาร์ จนสิ้นสุดระยะ young microspore ข้าวสาลีทั้งสองพันธุ์ก็จะได้รับโบรอนที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตอีกครั้ง จนถึงระยะ anthesis ละอองเรณูจะถูกนำมาวัดความมีชีวิตและสังเกตจำนวน nuclei โดยวิธี FCR test และ DAPI test ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า การให้โบรอนต่ำใน ระยะวิกฤติของการสร้างละอองเรณูในเกสรตัวผู้ จะส่งผลกระทบเสียหายต่อความมีชีวิตของละอองเรณูใน พันธุ์ SW 41 รวมทั้งยังผลิตละอองเรณูที่ผิดปกติ ส่วนของผนังเซลล์ จะไม่แยกจากกัน และนิวเคลียสก็ขาดหายไปจากจำนวนปกติ ในขณะที่ Fang 60 ซึ่งได้รับโบรอนไม่เพียงพอในช่วงสำคัญของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กระบวนการสร้างละอองเรณูในเกสรตัวผู้เหมือนกับ SW41 แต่กลับไม่พบอาการผิดปกติจากการขาดโบรอนที่มีต่อ การมีชีวิต การสร้างนิวเคลียส รวมทั้ง การสร้างผนังเซลล์ของละอองเรณู

การทดสอบความแตกต่าง ใน B transport และ B retranslocation ภายใต้สภาพขาดโบรอน ในช่วงวิกฤติของกระบวนการสร้างละอองเรณูในเกสรตัวผู้ ระหว่างพันธุ์ทน Fang 60 และ พันธุ์ไม่ทน SW 41 พบว่าเมื่อปริมาณโบรอนภายนอกถูกจำกัดในระหว่างการสร้างละอองเรณูตั้งแต่ระยะ premeiotic interphase ถึงระยะ young microspore โบรอนทั้งหมดในต้นของข้าวสาลีทั้งสองพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน แต่การแบ่งสันปันส่วนโบรอนเข้าสู่รวงของ Fang 60 มากกว่า SW 41 ถึงสองเท่า ซึ่งเป็นเหตุให้ Fang 60 สามารถรักษาระดับความเข้มข้นในรวงได้ สูงถึง 6.8 mg kg^{-1} ในขณะที่ รวงของSW 41 เหลือโบรอนที่ความเข้มข้นน้อยมาก คือ 3.8 mg kg^{-1} และพบว่าเมื่อปริมาณโบรอนภายนอกถูกจำกัดในช่วงวิกฤติของการสร้างละอองเรณู โบรอนที่ปรากฏในรวงไม่ได้มาจากโบรอนเก่าที่พืชได้สะสมไว้ก่อนในเนื้อเยื่อแต่มาจากโบรอนใหม่ที่รากพืชดูดได้ในขณะนั้น และพบว่าโบรอนใหม่ที่ปรากฏในรวง ของ Fang 60 มีมากกว่า ใน SW 41 ซึ่งชี้ให้เห็นถึงสมรรถภาพการใช้โบรอนในข้าวสาลีว่าเกี่ยวข้องกับกลไกการขนส่งโบรอนผ่านทางท่อน้ำเข้าไปในรวงที่กำลังพัฒนา นอกจากนี้พบว่าโบรอนใหม่ใน Fang 60 มีอัตราการเคลื่อนที่เข้าไปในรวงได้เร็วกว่าในรวงของ SW 41 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการที่พันธุ์ Fang 60 มีสมรรถภาพการใช้โบรอนที่สูงกว่า SW 41นั้นเกี่ยวข้องกับความสามารถที่เก่งกว่าภายใต้สภาพขาดโบรอนในการลำเลียงโบรอนใหม่จากรากเข้าไปในรวงโดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงวิกฤติของกระบวนการสร้างละอองเรณูซึ่งอ่อนแอต่อการขาดโบรอน

ความสามารถที่เก่งกว่าใน Fang 60 ในการขนส่งโบรอนเข้าสู่รวงที่กำลังพัฒนาภายใต้สภาพขาดโบรอนช่วงวิกฤติของกระบวนการสร้างละอองเรณู เป็นกลไกหลักที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการหลีกเลี่ยงการเป็นหมันและการสูญเสียผลผลิตได้ในข้าวสาลีเมื่อปลูกในดินที่มีโบรอนต่ำ ในทางตรงกันข้ามไม่พบว่าพันธุ์ทนมีความสามารถในการลำเลียงโบรอนผ่านทางท่ออาหารเพื่อนำโบรอนมาใช้ภายในรวง หรือมีความเก่งในการหาโบรอนภายใต้สภาพที่มีโบรอนต่ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved