



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พืชไร่)

ปริญญา

พืชไร่

พืชไร่

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง

การตรวจสอบคุณลักษณะทางฟีโนไทป์และการตอบสนองของยีน *Heat Shock Transcription Factor (Hsf)* ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงในระยะเจริญพันธุ์ของข้าวเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลาย

Phenotypic Characterization and Expression Response of *Heat Shock Transcription Factor (Hsf)* Genes under High Temperature at Reproductive Stage of Jao Hom Nin Rice Mutant Lines

นามผู้วิจัย

นางสาววารุณี เดชพิทยานันท์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชเนษฎ์ ม้าลำพอง, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์จรีรัตน์ มงคลศิริวัฒนา, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชเนษฎ์ ม้าลำพอง, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การตรวจสอบคุณลักษณะทางฟีโนไทป์และการตอบสนองของยีน *Heat Shock Transcription Factor (Hsf)* ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงในระยะเจริญพันธุ์ของข้าวเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลาย

Phenotypic Characterization and Expression Response of *Heat Shock Transcription Factor (Hsf)* Genes under High Temperature at Reproductive Stage of Jao Hom Nin Rice Mutant Lines

โดย

นางสาววารุณี เดชพิทยานันท์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชไร่)

พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วารุณี เดชพิทยานันท์ 2557: การตรวจสอบคุณลักษณะทางฟีโนไทป์และการตอบสนองของยีน *Heat Shock Transcription Factor (Hsf)* ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงในระยะเจริญพันธุ์ของข้าวเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลาย ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พืชไร่) สาขาพืชไร่ ภาควิชาพืชไร่นา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชเนษฎี ม้าลำพอง, Ph.D. 85 หน้า

อุณหภูมิสูงในช่วงระยะเจริญพันธุ์ของข้าวมีความสำคัญต่อการกำหนดผลผลิต (grain yield) เนื่องจากเกิดการผสมเกสรไม่ติด ในการวิจัยนี้ได้ใช้สายพันธุ์ข้าวเจ้าหอมนิล (wild type) สายพันธุ์กลายเบอร์ 9962 7988 และ 7766 ทำการเปรียบเทียบการปลูกระหว่างภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง ภายในโรงเรือนที่ควบคุมอุณหภูมิอยู่ในช่วง 40-45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมงในเวลากลางวัน ตั้งแต่ระยะตั้งท้องจนถึงเก็บเกี่ยว ประเมินเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด ความมีชีวิตของละอองเกสร น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดติดต่อดัน น้ำหนักรวง ความยาวรวง จำนวนรวงต่อดัน จำนวนกอกต่อดัน ความสูงต้น และการแสดงออกของยีน *Heat shock transcription (Hsfs)* ได้แก่ *OsHsfA2a*, *OsHsfA2b*, *OsHsfA2d*, *OsHsfA7*, *OsHsfA9*, *OsHsfA2e* และ *OsHsfA4d* และยีนกลุ่ม *MADS box* ได้แก่ *OsAP1* โดยทำการศึกษาในใบธง และดอกอ่อนในระยะ R_2 ผลการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดติดต่อดัน จำนวนตอกกอก ความยาวรวง น้ำหนักรวง ของข้าวที่ปลูกภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติมีค่าสูงกว่าในสภาพอุณหภูมิสูง ยกเว้น จำนวนรวงต่อดัน และความสูงต้น ที่ปลูกภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าในสภาพอุณหภูมิสูง ซึ่งสายพันธุ์ที่ติดเมล็ดสูงที่สุดภายใต้สภาพอุณหภูมิสูง คือ M9962 มีค่าเท่ากับ 75.57 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสายพันธุ์ M7766 มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดที่ต่ำที่สุด เท่ากับ 18.09 เปอร์เซ็นต์ แต่ความมีชีวิตของละอองเกสรในทั้งสองอุณหภูมิไม่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีน *Heat shock transcription factor* และ *MADS box* ทั้งเนื้อเยื่อใบ และดอกในระยะ R_2 ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงมีผลต่อการแสดงออกของยีน *OsHsfA2a* *OsHsfA2b* *OsHsfA2d* *OsHsfA2e* *OsHsfA4d* *OsHsfA7* และ *OsAP1* ยกเว้น *OsHsfA9* โดยมีความไวในการตอบสนองในแต่ละสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งสายพันธุ์กลายทร้อน M9962 มีรูปแบบการตอบสนองที่แตกต่างจากสายพันธุ์ M7766 อย่างชัดเจน

Warunee Detpittayanan 2014: Phenotypic Characterization and Expression Response of Heat Shock Transcription Factor (Hsf) Genes under High Temperature at Reproductive Stage of Jao Hom Nin Rice Mutant Lines. Master of Science (Agronomy), Major Field: Agronomy, Department of Agronomy. Thesis Advisor: Assistant Professor Chanate Malumpong, Ph.D. 85 pages

High temperature at the reproductive stages is one of an important factor to determine grain yields of rice because of its male in the florets are sterile. In this research, Jao Hom Nin (wild type) and their mutant lines, i.e. M9962 M7988 and M7766 were used to evaluate percent of seed set, percent of pollen viability, 100 seed weight, yield/plant, panicle weight, panicle height, no. panicle/plant, tiller/plant, and plant height under high temperature condition compare to natural temperature condition (control). Greenhouse at 40-45 °C for 6 hours/day from booting stage until harvesting was used as high temperature condition. In addition, *heat-shock transcription factor* genes including, *OsHsfA2a*, *OsHsfA2b*, *OsHsfA2d*, *OsHsfA7*, *OsHsfA9*, *OsHsfA2e* and *OsHsfA4d* and *MADS box* genes were observed the expression level in flag leaf and young flowers. The result showed that percent of seed set, 100 seed weight, yield/plant, tiller/plant, panicle height and panicle weight under natural temperature were better than high temperature except panicle/plant and plant high were lower than high temperature. The M9962 line showed the highest percent of seed set (75.57 %), whereas the M7766 line showed the lowest percent of seed set (18.09 %). However, percent of pollen viability were non-significant difference between temperature conditions. The expression level of *heat shock transcription factor* and *MADS box* genes at R2 stage in flag leaf and florets were affected by under heat stress, *OsHsfA2a* *OsHsfA2b* *OsHsfA2d* *OsHsfA2e* *OsHsfA4d* *OsHsfA7* and *OsAP1*, except *OsHsfA9*. Interestingly, their expression response was different among varieties. The heat tolerant mutant line (M9962) showed different expression pattern from heat sensitive mutant line (M7766) clearly.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชเนษฎ์ ม้าลำพอง อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก อาจารย์ ดร. จีรัตน์ มงคลศิริวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้
กรุณาให้คำปรึกษา และคำแนะนำในการวางแผนการทดลอง รวมทั้งการเรียบเรียงตลอดจนตรวจ
แก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จุฑามาศ ร่มแก้ว
ประธานในการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย และ อาจารย์ ดร. นงนาถ พ้อคำ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่
กรุณาให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน ทุกท่านที่ได้ให้
ความรู้ และคำแนะนำในด้านการศึกษาดูแลมา ขอขอบคุณ นายชาติรี แสนสุข นายเอกวัฒน์
ไชยชุมภู และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
และขอขอบคุณเพื่อน ๆ และน้อง ๆ นิสิตภาควิชาพืชไร่ฯ ทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำ
วิทยานิพนธ์จนสำเร็จ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณครอบครัว ที่เป็นกำลังใจในการศึกษาดูแลมา

วารุณี เดชพิทยานันท์
กรกฎาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	27
อุปกรณ์	27
วิธีการ	29
ผลและวิจารณ์	35
สรุป	65
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	67
ภาคผนวก	80
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	85

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ cDNA (bio rad)	31
2	ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม Real-Time PCR (KAPA)	32
3	ไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบการแสดงออกของยีน <i>Heat shock transcription factor</i> และ <i>MADS box</i> โดยเทคนิค Real-time PCR	33
4	เปอร์เซ็นต์การติดเมิลด์ของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง	37
5	ความมีชีวิตของละอองเกสรของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง	39
6	น้ำหนัก 100 เมล็ด ของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง	42
7	น้ำหนักเมล็ดติดต่อดันของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง	44
8	น้ำหนักรวงของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง	46
9	ความยาวรวงของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง	48
10	จำนวนรวงต่อดันของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง	50
11	จำนวนกอกต่อดันของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง	52
12	ความสูงต้นของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง	54
13	การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ระหว่างเปอร์เซ็นต์การติดเมิลด์ และฟิโนไทป์บางประการ	56
14	ค่าการแสดงออกของยีน <i>Heat shock transcription factor</i> และ <i>MADS box</i> จากเนื้อเยื่อดอก (fold change)	61

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
15	ค่าการแสดงออกของยีน <i>Heat shock transcription factor</i> และ <i>MADS box</i> จากเนื้อเยื่อใบ (fold change)	63
ตารางผนวกที่		
1	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด ความมีชีวิตของละอองเกสร น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดติดต่อดัน น้ำหนักรวง ความยาวรวง จำนวนกอกต่อดัน จำนวนรวงต่อดัน และความสูงต้น	81

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้าง quartet model ใน <i>Arabidopsis</i>	19
2 กราฟแสดงปฏิกิริยา Real-time PCR ค่า threshold ตั้งให้เหนือตำแหน่งของ background	25
3 แสดงการสร้างกราฟมาตรฐานของเทคนิค Real-time PCR	26
4 การแสดงออกยีน <i>Heat shock transcription factor</i> และ <i>MADS box</i> จากเนื้อเยื่อดอก (fold change)	62
5 การแสดงออกของยีน <i>Heat shock transcription factor</i> และ <i>MADS box</i> จากเนื้อเยื่อใบ (fold change)	64
ภาพผนวกที่	
1 กราฟอุณหภูมิอากาศเฉลี่ยตอนกลางวัน (10.00-16.00 น.) ในสภาพโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิสูง และสภาพแปลงทดลองธรรมชาติ เดือนกรกฎาคม-กันยายน พ.ศ.2556	82
2 กราฟความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์) เฉลี่ยตอนกลางวัน (10.00-16.00 น.) ในสภาพโรงเรือน ควบคุมอุณหภูมิสูง และสภาพแปลงทดลองธรรมชาติ เดือนกรกฎาคม-กันยายน พ.ศ.2556	83
3 กราฟความเข้มแสง (PAR) เฉลี่ยตอนกลางวัน (10.00-16.00 น.) ในสภาพโรงเรือน ควบคุมอุณหภูมิสูง และสภาพแปลงทดลองธรรมชาติ เดือนกรกฎาคม-กันยายน พ.ศ.2556	84

การตรวจสอบคุณลักษณะทางฟีโนไทป์และการตอบสนองของยีน *Heat Shock Transcription Factor (Hsf)* ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงในระยะเจริญพันธุ์ของข้าวเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลาย

Phenotypic Characterization and Expression Response of *Heat Shock Transcription Factor (Hsf)* Genes under High Temperature at Reproductive Stage of Jao Hom Nin Rice Mutant Lines

คำนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อประเทศไทย เนื่องจากเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้สูงสุดให้กับประเทศเมื่อเปรียบเทียบกับสินค้าทางการเกษตรอื่น ๆ ซึ่งการผลิต และการบริโภคข้าวทั่วโลกมากกว่าร้อยละ 90 อยู่ในทวีปเอเชีย (FAO, 2008) โดยผลผลิตข้าวส่วนใหญ่ของประเทศอื่น ๆ ในเอเชียจะใช้บริโภคภายในประเทศ และอาจนำเข้าข้าวจากประเทศไทย ซึ่งไทยมีข้าวเหลือส่งออกประมาณร้อยละ 40 ของปริมาณการผลิตทั้งหมด (นงเยาว์, 2553) นอกจากนี้ข้าวถือเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานที่สำคัญต่อมนุษย์ ซึ่งประชากรโลกมากกว่า 3 พันล้านคนต้องการบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก และความต้องการบริโภคข้าวยังสูงขึ้นเป็นผลจากประชากรโลกเพิ่มมากขึ้น (USDA-FAS, 2002) จึงต้องมีการเพิ่มผลผลิตข้าวประมาณปีละ 1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการ ดังนั้น เพื่อให้ผลผลิตข้าวเพียงพอต่อความต้องการของประชากรโลกในปี ค.ศ. 2025 ผลผลิตข้าวโดยเฉลี่ยของโลกในเขตชลประทานจะต้องเพิ่มขึ้นจาก 5 ตันต่อเฮกตาร์ เป็น 8.5 ตันต่อเฮกตาร์ (นงเยาว์, 2553) แต่ในปัจจุบันสภาพภูมิอากาศเกิดความผันแปรจากผลของสภาวะโลกร้อนอันเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซอื่น ๆ ที่ก่อให้เกิดสภาวะเรือนกระจก และส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ทำให้ผลผลิตพืชลดลง (IPCC, 2007) ซึ่งอุณหภูมิตั้งแต่ 35 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่วิกฤติของข้าวในระยะเจริญพันธุ์มีผลต่อข้าวในระยะตั้งท้อง (booting) ระยะออกรวง (heading) ระยะผสมเกสร (flowering) และระยะการพัฒนาเมล็ด (grain filling) (Matsui *et al.*, 2000) จากการศึกษาในระดับพันธุศาสตร์โมเลกุล พบว่า *Heat shock protein (Hsps)* เป็นกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องต่อการตอบสนองของพืชในสภาพเครียดต่าง ๆ โดยเฉพาะความเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสูง (heat stress) โดยมีหน้าที่หลักในการรักษาเสถียรภาพของโปรตีนเมื่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม (Sung *et al.*,

2001) โดยมี *Heat shock transcription factor (Hsfs)* เป็นศูนย์กลางที่ควบคุมการตอบสนองต่อสภาพเครียด (Ai-Ling *et al.*, 2010) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการแสดงออกของยีน *heat shock transcription factor (Hsfs)* ที่คาดว่าจะเกี่ยวข้องกับกลไกการทนทานต่ออุณหภูมิสูง ควบคู่กับการแสดงออกกลุ่มยีน MADS box ซึ่งมีหน้าที่ในการควบคุมการออกดอกและการพัฒนา ดอก (Gunter *et al.*, 2000) ในระยะเจริญพันธุ์เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่ทนทานต่ออุณหภูมิสูง



วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาพีไอน์โทปีของข้าวเจ้าหอมนิลภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง
2. เพื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีนกลุ่ม *Hsfs* และ *MADS box* ในข้าวเจ้าหอมนิล และข้าวเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายในระยะเจริญพันธุ์ ภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง



การตรวจเอกสาร

ข้าว

ถิ่นกำเนิดข้าวมีข้อมูลการค้นพบที่หลากหลาย Grist (1986) เชื่อว่าข้าวมีถิ่นกำเนิดอยู่ทาง ตะวันตกเฉียงใต้ของภูเขาหิมาลัยในประเทศอินเดีย ประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และ แอฟริกา อรรถคูดี และ นพพร (2547) รายงานว่าข้าวมีแหล่งกำเนิดมาจากทางตอนใต้ของ ประเทศจีน และ Grist (1986) กล่าวว่าถิ่นกำเนิดข้าวพบในบริเวณลุ่มแม่น้ำของประเทศจีน อินเดีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งข้าวมีการปรับตัวได้ดีในสภาพต่าง ๆ เช่น ต่ำกว่า ระดับน้ำทะเล 3 เมตร ในประเทศอินเดีย และสูงกว่าระดับน้ำทะเล 3,000 เมตร ในประเทศเนปาล โดยพบการปลูกข้าวกระจายทั่วโลกตั้งแต่ละติจูดที่ 50 องศาเหนือของประเทศจีนไปจนถึงละติจูด ที่ 35 องศาใต้ของประเทศออสเตรเลีย Childs and Baldwin (2010) รายงานว่า พื้นที่ปลูกข้าวเพิ่ม มากขึ้นจากเดิม โดยในปี ค.ศ. 1960 มีพื้นที่ปลูกข้าว 120.1 ล้านเฮกตาร์ และในปี ค.ศ. 2008 เพิ่ม มากขึ้น เป็น 155.7 เฮกตาร์ ซึ่งประชากรโลกเพิ่มมากกว่า 10 เท่า และจะเพิ่มต่อไปเรื่อย ๆ จนถึง ในปี ค.ศ. 2050

การจำแนกพืชในสกุล *Oryza* มีอยู่ด้วยกัน 23 ชนิด ได้แก่ ข้าวป่า (wild rice) 21 ชนิด ส่วนอีก 2 ชนิด คือ *Oryza sativa* เป็นชนิดที่ปลูกทั่วไป (cultivated rice) และ *Oryza glaberrima* จะปลูกเฉพาะในทางใต้ของแอฟริกา (นงเยาว์, 2553) นอกจากนี้ยังสามารถจำแนก ข้าว *Oryza sativa* เป็น 3 ชนิด ได้แก่ 1. อินดิกา (Indica) มีลักษณะของเมล็ดยาว สามารถ เจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน (tropical zone) เช่น ศรีลังกา ทางตอนใต้และตอนกลางของจีน อินเดีย อินโดนีเซีย บังกลาเทศ ไทย และฟิลิปปินส์ เป็นต้น 2. จาโปนิกา (Japonica) เมล็ดมีขนาด สั้น และป้อม พบเปอร์เซ็นต์อะไมโลส (amylose) ต่ำ เจริญเติบโตได้ดีในเขตอบอุ่น เช่น ทางตอน เหนือและตะวันออกเฉียงใต้ของจีน ญี่ปุ่น เกาหลี ตอนใต้ของยุโรป รัสเซีย และอเมริกา เป็นต้น และ 3. จาวานิกา (Javanica) ลำต้นค่อนข้างสูง เมล็ดขนาดใหญ่ และป้อม สันนิษฐานว่าเกิดขึ้นจาก การคัดเลือกพันธุ์จากข้าวอินดิกา และนำมาปลูกในประเทศอินโดนีเซียเป็นส่วนใหญ่ (บุญหงส์, 2553)

(*Oryza sativa* L.) เป็นธัญพืชที่สำคัญของโลก และเป็นแหล่งพลังงานแก่มนุษย์ โดยความต้องการข้าวมีเพิ่มขึ้นมากกว่าธัญพืชอื่น เมื่อประชากรเพิ่มขึ้นความต้องการบริโภคข้าวย่อมสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่เป็นความยากที่จะเพิ่มผลผลิตข้าวให้สูงตามการบริโภค เนื่องจากในอนาคตเกิดสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงทั่วโลก โดยปกติข้าวต้องการอุณหภูมิสูงที่เหมาะสมตลอดฤดูปลูก และต้องการอุณหภูมิต่ำในระยะที่สร้างเมล็ด ข้าวที่ปลูกในประเทศปากีสถานมีอุณหภูมิในทุกวันเดือนสูงกว่า 33 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิเฉลี่ยทางตอนเหนือของประเทศญี่ปุ่นมีอุณหภูมิไม่เกิน 17 องศาเซลเซียส (Krishnan *et al.*, 2011)

การเจริญเติบโตของข้าวโดยทั่วไป จะแบ่งออกเป็นระยะต่างๆ ดังนี้ (วัชรินทร์, 2554)

1. การเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ (vegetative growth) มี 2 ระยะ ดังนี้

1.1 ระยะต้นกล้า (seedling stage) คือ ระยะจากข้าวงอกจนกระทั่งข้าวแตกกอ ใช้ระยะเวลาประมาณ 20 วัน (ขึ้นอยู่กับพันธุ์) และเมื่อสิ้นสุดระยะนี้ต้นข้าวจะมีใบประมาณ 5-6 ใบ

1.2 ระยะแตกกอ (tillering stage) คือ ระยะที่ข้าวเริ่มแตกกอจนถึงข้าวเริ่มสร้างช่อดอกอ่อน (panicle initiation) ใช้เวลาประมาณ 30-50 วัน ซึ่งหลังจากระยะต้นกล้านี้ขึ้นอยู่กับการตอบสนองต่อช่วงแสงของพันธุ์ข้าว

2. การเจริญเติบโตทางการสืบพันธุ์ (reproductive growth) เริ่มจากข้าวเริ่มสร้างช่อดอกอ่อน ผ่านระยะตั้งท้อง (booting stage) จนถึงผสมเกสร (heading, flowering, fertilization) จะใช้ระยะเวลาช่วงนี้ประมาณ 30-50 วัน โดยการเจริญเติบโตในช่วงนี้ ประกอบด้วยระยะต่าง ๆ ดังนี้

2.1 ระยะเริ่มสร้างช่อดอกอ่อน เมื่อข้าวแตกกอเต็มที่แล้วจะเข้าสู่ระยะสร้างช่อดอกอ่อน (พันธุ์ที่ไวแสงจะต้องได้รับช่วงแสงที่เหมาะสมจึงเกิดการสร้างรวง) ระยะนี้ต้นข้าวจะมีการยืดปล้อง (stem elongation) อย่างรวดเร็ว เมื่อผ่าลำต้นจะเห็นจุดกำเนิดช่อดอก (panicle primordium) มีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีขาวนวลๆ และจะเจริญเติบโตเรื่อย ๆ เป็นช่อดอกที่มีดอกเรียกว่า spikelets

2.2 ระยะตั้งท้อง เป็นระยะที่ดอกอ่อนของข้าวขยายตัวใหญ่ขึ้นจนเป็นช่อดอกที่สมบูรณ์ สามารถสังเกตได้จากกาบใบธงจะอ้วนพองขึ้น

2.3 ระยะออกดอกและผสมเกสร เป็นระยะที่ช่อดอกโผล่ออกจากกาบใบ (heading) ดอกข้าวบาน (flowering) และผสมเกสร (fertilization) ซึ่งจะเกิดพร้อมกันหรือเหลื่อมกันบ้างเพียงเล็กน้อย

3. การพัฒนาการของเมล็ด (grain development) เริ่มเกิดหลังจากการผสมเกสร รังไข่ที่ได้รับการผสมจะเจริญเติบโต ซึ่งอาหารที่ได้รับการสังเคราะห์แสงจะถูกสะสมในเมล็ด จึงเรียกระยะนี้ว่าระยะอาหารสะสมในเมล็ด (grain filling period) ดังนี้ (กฤษณา, 2555)

3.1 ระยะน้ำนม (milky stage) ในระยะนี้แป้งที่อยู่ในเมล็ดมีลักษณะเป็นของเหลวใส

3.2 ระยะแป้งอ่อน (dough stage) คือ ระยะที่แป้งน้ำนมเปลี่ยนเป็นแป้งอ่อนที่มีลักษณะค่อนข้างแข็งขึ้นจากเดิม

3.3 ระยะสุกแก่ หรือ ระยะพลับพลึง (maturation stage) คือ ระยะที่แป้งอ่อนเปลี่ยนเป็นแป้งแข็ง และเกิดการพัฒนาของเมล็ดเต็มที สังเกตได้จากสีของเปลือกเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง และน้ำหนักแห้งของเมล็ดสูงที่สุด และหลังจากนั้นน้ำหนักของเมล็ดจะค่อย ๆ ลดลง เนื่องจากความชื้นในเมล็ดลดลง ซึ่งระยะสร้างเมล็ดจนถึงระยะสุกแก่ หรือเก็บเกี่ยว (harvest maturity) โดยจะใช้เวลาในการพัฒนาเมล็ดทั้งหมดประมาณ 25-30 วัน ดังนั้น เมื่อรวมระยะต่าง ๆ ข้าวจะมีอายุในระหว่าง 110-120 วัน สำหรับข้าวไม่ไวแสง และประมาณ 120-140 วัน สำหรับข้าวไวแสง

แนวโน้มของสภาพภูมิอากาศที่เกิดจากสภาวะเรือนกระจก

Shah *et al.* (2011) รายงานว่า การปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจก เช่น CO₂, CH₄ และ N₂O ที่ปล่อยจากภาคเกษตรเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่ออุณหภูมิโลกที่สูงขึ้น ซึ่งค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดประจำปีในช่วงปี ค.ศ. 1979-2003 มีค่า 0.35 องศาเซลเซียส และ 1.13 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

IPCC (2007) ประเมินอุณหภูมิพื้นผิวโลกในปี ค.ศ. 2100 พบว่า เพิ่มขึ้น 1.4 ถึง 5.8 องศาเซลเซียส สาเหตุเนื่องจากสภาวะโลกร้อนที่เกิดจากการเพิ่มขึ้นของก๊าซเรือนกระจกที่เพิ่มขึ้นในชั้นบรรยากาศ โดยเพิ่มขึ้นจากเดิม 380 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ และอาจมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นที่ 485 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ -1000 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ นอกจากนี้สภาวะโลกร้อนยังมีผลต่อมหัตภัยทางธรรมชาติ เช่น น้ำท่วม ปริมาณน้ำฝนน้อย ปัญหาสภาวะขาดน้ำ เป็นต้น ซึ่งอุณหภูมิที่สูงขึ้นในช่วง 50 ปี (พ.ศ. 2494-พ.ศ. 2543) ข้อมูลสภาวะอากาศของประเทศไทยมีแนวโน้มสูงขึ้นทั้งประเทศ โดยอุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ยรายปีสูงกว่าค่าเฉลี่ยมากที่สุด 0.7 องศาเซลเซียส

กรมอุตุนิยมวิทยา (2553) รายงานสภาพภูมิอากาศในประเทศไทยเดือนมีนาคม และ เมษายน พบว่า เดือนมีนาคมอุณหภูมิเฉลี่ยมีค่าสูงกว่าค่าปกติในทุกภาค ของประเทศ และหลายพื้นที่มีอุณหภูมิสูงสุดซึ่งสูงกว่าสถิติเดิม โดยอุณหภูมิสูงสุดที่วัดได้ คือ 42.2 องศาเซลเซียส ส่วนในเดือนเมษายน พบว่า ในภาคเหนือมีอุณหภูมิสูงสุดซึ่งสูงกว่าสถิติเดิมที่เคยตรวจวัดเช่นกัน โดยอุณหภูมิที่วัดได้คือ 43.5 องศาเซลเซียส ซึ่งข่าวนาปรังที่ปลูกในช่วงเดือนดังกล่าวของทุกปีจะประสบกับสภาวะวิกฤตโดยตรงต่อการผสมเกสร และในปี พ.ศ. 2555 พบว่า อุณหภูมิเฉลี่ยรายเดือน และรายปีทั้งประเทศสูงกว่าค่าปกติ 0.9 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเดือน พฤศจิกายน และธันวาคมที่มีอุณหภูมิสูงกว่าค่าปกติประมาณ 2-3 องศาเซลเซียส นอกจากนี้เกือบตลอดฤดูฝนมีการกระจายของฝนไม่สม่ำเสมอ และมีปริมาณต่ำกว่าปกติ (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2555)

ผลของความเครียดจากสภาวะอุณหภูมิสูงต่อการเจริญเติบโต และพัฒนาพืช

สภาวะเครียดจากอุณหภูมิสูงเป็นปัญหาที่สำคัญต่อการเกษตรของโลก โดยมีผลกระทบต่อลักษณะทางกายวิภาค สัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และกระบวนการทางชีวเคมีของพืช ที่จำกัดการพัฒนา และการเจริญเติบโต จึงมีผลต่อผลผลิตที่ลดลง ซึ่งอุณหภูมิวิกฤตส่งผลกระทบต่อพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยทางพันธุกรรม และสภาพแวดล้อม เช่น ในมะเขือเทศ พบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 35 องศาเซลเซียส การงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตของต้น การออกดอก และการติดผลจะได้รับผลกระทบอย่างมาก ซึ่งในพืชชนิดอื่นอุณหภูมิวิกฤตอาจจะต่ำหรือสูงกว่า 35 องศาเซลเซียสได้ เช่น อุณหภูมิวิกฤตของฝ้าย ข้าวโพด ข้าว และข้าวสาลี อยู่ที่ 45 38 34 และ 26 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Wahid *et al.*, 2007)

Weaich *et al.* (1996) พบว่า อุณหภูมิสูงที่ 40 องศาเซลเซียส ส่งผลต่อการงอกของเมล็ด ข้าวโพดที่ซ้าลง สูญเสียความแข็งแรง และการพัฒนาของ coleoptile ลดลง เมื่อพืชได้รับอุณหภูมิสูงในช่วงระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น เช่น ในอ้อยส่งผลให้ปล้องสั้นลง การแตกกอมากขึ้น สุกแก่เร็วขึ้น และส่งผลให้น้ำหนักรวมของผลผลิตลดลง (Ebrahim *et al.*, 1988) และอุณหภูมิสูงในระยะสืบพันธุ์ และการสร้างเมล็ดหรือผล มีผลกระทบต่อพืชเช่นเดียวกัน เช่น กระบวนการสืบพันธุ์ ในมะเขือเทศ ได้แก่ การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ และเพศเมีย การงอกของละอองเกสร การพัฒนาท่อละอองเกสร ความมีชีวิตของรังไข่ สัณฐานของเกสรตัวเมีย จำนวนละอองเกสรที่ออกบนยอดเกสรตัวเมีย กระบวนการก่อนและหลังการปฏิสนธิ (Foolad, 2005) นอกจากนี้ อุณหภูมิสูงในระยะการพัฒนาเมล็ดของธัญพืชสามารถเปลี่ยนคุณสมบัติทางกายภาพ และทางเคมีของคุณภาพแป้งและโปรตีน และส่งผลให้คุณภาพเมล็ดธัญพืชลดลง (Perrotta *et al.*, 1998)

ผลของอุณหภูมิสูงต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาในข้าว

1. การงอก

Krishnan *et al.* (2011) พบว่า เมล็ดข้าวที่อยู่ในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 6 วัน มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 90 เปอร์เซ็นต์ จึงทดสอบความงอกของข้าวพันธุ์ Ou-no 200 ที่อุณหภูมิ 27-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าวมีค่า 90-97 เปอร์เซ็นต์ แต่เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าอุณหภูมิที่ใช้ทดสอบ และ

เมล็ดไม้งอก ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส และถ้าเมล็ดงอกผิดปกติ จะใช้ระยะเวลาในการงอกส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ และใช้เวลานานในการเจริญเติบโตจนครบวงจร ซึ่งการเก็บเกี่ยวข้าวแล้วนำมาปลูกทันทีข้าวจะมีความงอกที่ต่ำ เนื่องจากเกิดการพักตัวของเมล็ด แต่สามารถลดการพักตัวโดยนำเมล็ดบ่มที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

2. การเจริญเติบโตของต้นอ่อน

Yoshida (1973) พบว่า สัปดาห์แรกหลังการงอกต้นกล้าข้าวมีความอ่อนไหวต่ออุณหภูมิเป็นอย่างมาก โดยมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงที่อุณหภูมิ 22 และ 31 องศาเซลเซียส Nishiyama (1977) รายงานว่า อุณหภูมิวิกฤตมีความหลากหลาย เช่น อุณหภูมิต่ำวิกฤตประมาณ 10 องศาเซลเซียส จะส่งผลกระทบต่อขยายขนาดของยอด และราก อาจขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ การจัดการแปลง และการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการแบ่งเซลล์ปลายรากอยู่ที่ 25 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของการยืดขยายขนาดของเซลล์ คือ 30 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิที่หยุดการยืดขยายขนาดของเซลล์ราก คือ ต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส และสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส

3. ใบอ่อน

อุณหภูมิเป็นปัจจัยแวดล้อมที่สำคัญต่อการงอกของใบ โดยจำนวนของใบมีความสัมพันธ์กับความร้อนที่ถูกระงับจากต้นอ่อนที่โผล่ขึ้นมาซึ่งอุณหภูมิต่ำกว่า 8 องศาเซลเซียส จะหยุดการพัฒนาของใบ ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 25 องศาเซลเซียส ทำให้มีอัตราการพัฒนาที่รวดเร็ว (Yoshida, 1981) Ellise *et al.* (1993) พบว่า ในบางสายพันธุ์ เช่น IR36 มีอัตราการงอกของใบอยู่ที่ 26 องศาเซลเซียส โดยการงอกของใบถูกควบคุมจากอุณหภูมิบริเวณเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (Krishnan *et al.*, 2011)

4. การแตกกอ

ทวี (2541) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า และการแตกกอของข้าวอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส ต้นข้าวจะชะงักการแตกกอเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส

Yoshida (1981) พบว่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจำนวนกอจะเพิ่มมากขึ้นด้วย โดยจำนวนกอต่อต้นจะเป็นตัวกำหนดจำนวนช่อดอกที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของผลผลิต ซึ่งจำนวนกอที่มากนั้นอาจส่งผลให้การเคลื่อนย้ายธาตุอาหาร และดูดสารอาหารไปใช้ในแต่ละกอไม่เพียงพอ ทำให้ผลผลิตลดลง แต่หากอุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส ข้าวจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ทำให้การแตกกอลดลง (กฤษณา, 2555)

Krishnan *et al.* (2011) รายงานว่า ระยะการออกดอก คือ หลังจากระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น เช่น การแตกกอสูงสุด การยืดขยายของลำต้นสมบูรณ์ การงอกของใบธง การตั้งท้อง และหลังจากนั้นจะเริ่มการสร้างดอก จนถึงระยะการสร้างเมล็ด โดยมีสัญญาณจากปัจจัยภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และปัจจัยภายนอกจากสิ่งแวดล้อมที่เป็นปัจจัยบ่งชี้ถึงการเจริญเติบโต และให้ผลผลิต โดยมีปัจจัยจากสภาพแวดล้อม 2 ปัจจัยหลัก คือ ช่วงแสง และอุณหภูมิ โดยเฉพาะในระยะ gametogenesis (ก่อนการสร้างละอองเกสร 8-9 วัน) และระยะผสมพันธุ์ (หลังจากการสร้างละอองเกสร 1-3 วัน) ซึ่ง รังไข่ (ovules) มีความต้านทานต่ออุณหภูมิสูงกว่าละอองเกสร

5. อายุเก็บเกี่ยว

Yoshida (1981) รายงานว่า เมื่ออุณหภูมิลดลงอายุเก็บเกี่ยวจะยาวนานขึ้น แต่ที่อุณหภูมิสูงขึ้นอายุเก็บเกี่ยวจะเร็วขึ้น เช่น พันธุ์ IR26 มีอายุการเก็บเกี่ยวสูงขึ้นจากเดิมที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส อายุเก็บเกี่ยว 96 วัน แต่เมื่ออุณหภูมิลดลงเป็น 21 องศาเซลเซียส มีอายุเก็บเกี่ยว 134 วัน และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นอายุเก็บเกี่ยวจะสั้นลง เช่น ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส อายุเก็บเกี่ยว 91 วัน และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 30 องศาเซลเซียส มีอายุเก็บเกี่ยว 86 วัน ซึ่งอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้พืชไม่เกิดการผสมพันธุ์

6. คุณภาพเมล็ด

อุณหภูมิสูงในระยะสุกแก่ส่งผลให้เกิดความผิดปกติของลักษณะทางสัณฐาน และสีของข้าว ซึ่งเกิดจากการทำงานที่ผิดปกติของเอนไซม์ต่อการสร้างเมล็ด ซึ่งการเกิดท้องไขของเมล็ดข้าวเป็นปัจจัยที่กำหนดคุณภาพ และราคา (Yoshioka *et al.*, 2007) นงเยาว์ (2553) พบว่าสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลต่อการเกิดท้องไขเป็นอย่างมาก ถ้าอุณหภูมิสูงในช่วงหลังดอกบานจะทำให้เกิดท้องไขมากขึ้นด้วย Wakamatsu *et al.* (2007) พบว่า เมื่อรวงข้าวได้รับอุณหภูมิตั้งแต่ 26 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน น้ำหนักเมล็ด และจำนวนเมล็ดลดลง

ผลของอุณหภูมิสูงในระยะสีบพันธุ์และการให้ผลผลิต

Ai-Ling *et al.* (2010) รายงานว่า อุณหภูมิสูงในระยะสีบพันธุ์ (reproductive stage) เป็นปัจจัยสำคัญอย่างมากที่จะเป็นตัวกำหนดผลผลิต (grain yield) ข้าวมีความอ่อนไหวต่ออุณหภูมิต่ำ เนื่องจากข้าวเป็นพืชเขตร้อน แต่อย่างไรก็ตามสภาพภูมิอากาศโลกมีความแปรปรวนรุนแรงมากยิ่งขึ้น ส่งผลให้พืชเกิดสภาพเครียดตามสภาพแวดล้อมนั้น ๆ โดยเฉพาะช่วงสีบพันธุ์ซึ่งเป็นระยะที่อ่อนแอต่อผลจากสภาวะโลกร้อน และส่งผลให้ผลผลิตไม่แน่นอน รวมทั้งยังเกิดความเป็นหมันของเกสรตัวผู้ที่ถูกเหนี่ยวมาจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นอีกด้วย ซึ่ง Matusui and Omasa (2002) คาดการณ์ว่าผลผลิตทางตอนใต้ของญี่ปุ่นจะลดลง 40 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากสภาวะโลกร้อนที่จะเกิดขึ้นในอนาคตส่งผลให้อุณหภูมิสูงขึ้น และส่งผลวิกฤตต่อข้าวในระยะสีบพันธุ์ (reproductive stages) กระบวนการสร้างรวง (panicle initiation) การตั้งท้อง (booting: microsporogenesis) การผสมเกสร (anthesis) การปฏิสนธิ (fertilization) และการสร้างเมล็ด (grain filling) จึงส่งผลต่อผลผลิตข้าว

Satake and Yoshida (1978) รายงานว่า เมื่อข้าวได้รับอุณหภูมิมากกว่า 35 องศาเซลเซียส ติดต่อกัน 5 วัน ในระยะผสมเกสรพบดอกย่อยเป็นหมัน และไม่สามารถสร้างเมล็ดได้ในข้าวจาปอนิกา ซึ่งความเป็นหมันเกิดขึ้นจากความสามารถในการแตกของอับละอองเกสร การผลิตละอองเกสรที่มีชีวิต และการงอกของละอองเกสรบนเกสรตัวเมียลดลง โดย Cao *et al.* (2008) ศึกษารพัฒนาของละอองเกสรในข้าวอินดิคาภายใต้อุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ในระยะการแบ่งตัวแบบไมโอซิส พบว่า สภาพเครียดต่ออุณหภูมิสูงมีนัยสำคัญต่อการแตกของ

อับละของเกสร และความมีชีวิตของอับละของเกสรคิดเป็น 77 เปอร์เซ็นต์ (control) และ 63.7 เปอร์เซ็นต์ (heat stress) ซึ่งให้ผลผลิตลดลง 39.5 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ Jagadish *et al.* (2010) รายงานว่า อุณหภูมิสูงมากกว่า 1 ชั่วโมงขึ้นไปเพียงที่จะทำให้ดอกย่อยของข้าวเป็นหมันได้ โดยทดลองที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส พบว่า ความสมบูรณ์ของดอกย่อยลดลงเหลือเพียง 18 เปอร์เซ็นต์ และ 71 เปอร์เซ็นต์ ในพันธุ์ข้าวที่ทนทาน และไม่ทนทานต่ออุณหภูมิสูง ตามลำดับ เนื่องจากอุณหภูมิสูงมีผลให้ความมอกของละของเกสรลดลงจึงเกิดการปฏิสนธิลดลง

Mohammed and Tarpley (2009) รายงานว่า ในระยะการสร้างเมล็ด (grain filling) เมื่อได้รับอุณหภูมิสูงจะส่งผลกระทบต่อทำให้ผลผลิต และคุณภาพข้าวที่ลดลงเช่นเดียวกัน ซึ่งคุณภาพที่ลดลงประกอบด้วยคุณภาพโดยรวมต่อลักษณะปรากฏของเมล็ด คุณภาพการสีข้าว และการหุงต้ม เนื่องจากการเกิดท้องไข่ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของอะไมโลเพคติน (amylopectin) อุณหภูมิแป้งสุกที่สูงขึ้น และความคงตัวของแป้งสุกที่เป็นแป้งแข็งมากขึ้น นอกจากนี้อุณหภูมิที่สูงขึ้นในช่วงกลางคืนส่งผลกระทบต่อผลผลิตข้าวที่ลดลงเช่นเดียวกัน โดยพบว่า ผลผลิตข้าวลดลง 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่ออุณหภูมิกกลางคืนสูงขึ้น 1.1 องศาเซลเซียส

Yoshida (1981) รายงานว่า ในระยะการสร้างเกสรเพศผู้ของข้าวมีความอ่อนไหวต่ออุณหภูมิสูงเป็นอย่างมาก เมื่อเกสรเพศผู้ได้รับอุณหภูมิที่สูงจะมีผลต่อกระบวนการสร้างเกสรเพศผู้ เช่น การแตกของเกสรเพศผู้ การสร้างท่อนำละของเกสร (pollen tube) การพัฒนาของท่อนำละของเกสร (จะเกิดขึ้นหลังจากดอกย่อยของข้าวเปิดออก 45 นาที เพื่อให้ละของเกสรผสมกับไข่) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อดอกข้าวอยู่ที่ประมาณ 30 องศาเซลเซียส และเมื่อดอกข้าวได้รับอุณหภูมิสูงในระยะสร้างท่อดอกจะส่งผลกระทบต่อความเป็นหมันของดอกย่อย

ลักษณะเป็นหมันของเกสรเพศผู้

ความเป็นหมันของเกสรเพศผู้ (male sterility) คือ การที่พืชไม่สามารถสร้าง หรือปล่อยละของเกสร (pollen grain) ได้อย่างปกติ อาจเกิดจากความผิดปกติของโครโมโซม (chromosome aberrations) ปฏิกริยาของยีน (gene) หรือไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ที่ส่งผลกระทบต่อเกสรเพศผู้ หรือเพศเมีย หรือส่วนของดอกทั้งหมดไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ หรือเกิดจากคัพภะ หรือเอนโดสเปิร์มพัฒนาผิดปกติ ซึ่งลักษณะเป็นหมันที่กล่าวเป็นผลให้เกิดการผสมตัวเองไม่ติด

อาจเกิดจากการกลายพันธุ์ของยีนที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งของกลุ่มยีนที่ควบคุมการพัฒนาของ
ละอองเกสรของพืช ลักษณะเพศผู้เป็นหมันสามารถพบได้ในพืชเกือบทุกชนิด และเกือบทั้งหมดถูก
ควบคุมด้วยยีนแฝง การเป็นหมันของเกสรเพศผู้ส่วนใหญ่เกิดจากความผิดพลาดในระยะเวลาที่เซลล์
สร้างไมโครสปอร์ (ศุภนารี, 2551)

การจำแนกลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมัน (สุทัศน์, 2539)

1. การเป็นหมันที่ถูกควบคุมจากยีนในนิวเคลียส (genetic male sterility) ลักษณะการ
เป็นหมันชนิดนี้ถูกควบคุมด้วยยีนด้อย (ms) ที่อยู่บนโครโมโซมในนิวเคลียส และยีนที่มีการสร้าง
ละอองเกสรปกติ (Ms) การรักษาพันธุ์เป็นหมันต้องใช้ละอองเรณูจากต้นปกติ (Msms)
2. การเป็นหมันที่ถูกควบคุมด้วยไซโทพลาสซึม (cytoplasmic male sterility) ลักษณะ
การเป็นหมันที่ถูกควบคุมด้วยยีนในไซโทพลาสซึมเรียกว่า sterile (S) ส่วนไซโทพลาสซึมปกติ
เรียกว่า fertile (F) ในการผสมระหว่างต้นที่เป็นหมัน และไม่เป็นหมันจะได้ลูกผสมชั่วที่ 1 เป็นหมัน
เสมอ เนื่องจาก ไซโทพลาสซึมของลูกได้รับการถ่ายทอดจากไข่ของต้นแม่ใช้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์
ลูกผสมทางการค้ามากถึง 90 เปอร์เซ็นต์
3. การเป็นหมันที่ถูกควบคุมด้วยยีนในนิวเคลียส และไซโทพลาสซึม (cytoplasmic-
genetic male sterility) ลักษณะการเป็นหมันที่เกิดจากปฏิกริยาของยีนในนิวเคลียส และ
ไซโทพลาสซึมที่มียีนควบคุมการเป็นหมันในนิวเคลียส เรียกว่า restorer gene (Rf) ถ้ายีนนี้อยู่ใน
สภาพข่มทำให้พืชที่มีไซโทพลาสซึมปกติ (N) และไซโทพลาสซึมเป็นหมันแสดงลักษณะเกสรเพศผู้
ปกติ ถ้า restorer gene (Rf, rf) Rf = ยีนข่มในนิวเคลียส, rf = ยีนแฝงในนิวเคลียส F =
ไซโทพลาสซึมปกติ (fertile cytoplasm), S = ไซโทพลาสซึมเป็นหมัน (sterile cytoplasm) แสดง
ลักษณะการเป็นหมันตามพันธุกรรมดังนี้

พืชที่มีเกสรเพศผู้ปกติ ได้แก่ พืชที่มี genotype ดังนี้ S(RfRf), S(Rfrf), N(RfRf),
N(Rfrf) และ N(rfrf)

พืชที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน ได้แก่ พืชที่มี genotype คือ S(rfrf) การรักษาสายพันธุ์เป็นหมันทำได้โดยผสมกับสายพันธุ์ปกติที่มี genotype ในนิวเคลียสเป็น rfrf ร่วมกับไซโทพลาสซึมที่ปกติ F

นอกจากนี้ ยังสามารถจำแนกชนิดของลักษณะเพศผู้เป็นหมันจากลักษณะที่ปรากฏดังนี้ (ศุภานารี, 2551)

1. Pollen sterile ละอองเกสรมีลักษณะที่ผิดปกติ หรือมีละอองเกสรน้อยมากซึ่งไม่เพียงพอต่อการผสมเกสร ทำให้เกิดความล้มเหลวในการกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (microsporogenesis) ซึ่งละอองเกสรมีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ และพบว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันมากที่สุด
2. Function male sterility คือ ลักษณะของละอองเกสรปกติ แต่อับเรณูไม่เปิดให้ละอองเกสรออกมาจึงไม่เกิดการผสมเกสร
3. Structural male sterility คือ ลักษณะเกสรเพศผู้ (stamen) มีลักษณะผิดปกติ หรือไม่สามารถทำหน้าที่ได้อย่างปกติ

เนื่องจากข้าวเป็นพืชผสมตัวเองโดยธรรมชาติ ดังนั้น ลักษณะทางพันธุกรรมจึงอยู่ในสภาพคงตัว (homozygosity) จึงทำให้การเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมในสภาพธรรมชาติเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย และต้องให้ระยะเวลาานาน วิธีที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมได้เร็วขึ้น คือ การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (induced mutation) โดยทั่วไปการปรับปรุงพันธุ์โดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation breeding) นิยมใช้เมล็ดมากกว่าส่วนอื่น ๆ ของพืช (พรพรรณ, 2536)

การตอบสนองต่อสภาวะเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสูง (heat stress) ในระดับโมเลกุล

การตอบสนองต่อสภาวะเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสูง (heat stress) ในระดับโมเลกุล คือ การเปลี่ยนแปลงรูปแบบการแสดงออกของกลุ่มยีนบางกลุ่มแบบชั่วคราว ซึ่งปฏิกิริยาการตอบสนองนี้จะเหมือนกันในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด โดยรูปแบบของการตอบสนองทั่วไป คือ ชักนำให้มีการสังเคราะห์โปรตีนฮีตช็อก (Heat shock proteins: Hsps) เพิ่มมากขึ้นเพื่อรักษาภาวะเสถียรของโปรตีน รวมทั้งเอนไซม์ต่าง ๆ ในระบบสรีรวิทยาเพื่อให้ทนต่อสภาวะอุณหภูมิสูงได้ (Key *et al.*, 1981) โดยอุณหภูมิที่สามารถชักนำให้มีการตอบสนองในพืช จะแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของพืชชนิดนั้น ๆ โดยทั่วไปอุณหภูมิที่กระตุ้นให้เกิดความเครียดส่งสัญญาณภายในเซลล์จะสูงกว่าอุณหภูมิปกติ 5-10 องศาเซลเซียส และความรุนแรงของความเครียดยังขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่พืชต้องอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง ซึ่งสภาวะความเครียดอุณหภูมิสูงแล้วทำให้เกิดการตายนั้น เนื่องจากการสูญเสียการทำงานของเซลล์ ที่เกิดจากผลกระทบของอุณหภูมิสูงโดยตรงและรวดเร็ว (rapid direct) คือ โปรตีนเสียสภาพและเกิดการตกตะกอน ไชมันท์ที่เชื่อมหุ้มเซลล์ละลาย หรืออาจจะผลกระทบโดยอ้อมช้าๆ (slower indirect) คือ ทำให้เอนไซม์ในคลอโรพลาสต์ และ ไมโทคอนเดรียไม่สามารถทำงานได้ ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ทำให้โปรตีนและเมมเบรนและโปรตีนเกิดการย่อยสลาย จึงยับยั้งการเจริญเติบโต มีการสร้างสารพิษขึ้นภายในเซลล์ มีการสร้างสารอนุมูลอิสระ (ROS : reactive oxygen species) และเกิดการรั่วไหลของไอออนออกจากเซลล์ เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความไวของโปรตีน หรือ เอนไซม์ที่จะถูกทำลายด้วยความร้อน ดังนั้น กลไกการปรับตัวของพืช เพื่อป้องกันเซลล์จากพิษต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากอุณหภูมิสูงจึงเป็นกุญแจสำคัญที่จะทำให้พืชทนทานต่อความร้อนได้ ดังนั้น การตอบสนองต่อความเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสูงในระดับโมเลกุล จึงได้รับความสนใจอย่างมาก ศึกษาถึงการแสดงออก ตลอดจนการควบคุมแสดงออกของกลุ่มยีนฮีตช็อกที่ถูกควบคุมโดยกลุ่มยีน *Heat shock transcription factor (Hsfs)* (Key *et al.*, 1985; Key *et al.*, 1987)

โปรตีนฮีตช็อก (Heat shock proteins : Hsps) จัดเป็นโมเลกุลเชพเพอรอน (chaperon) ที่มีหน้าที่ช่วยพับโปรตีนที่กำลังเสียสภาพ โดยมีความสามารถในการจดจำ และเข้าจับกับโปรตีนได้อย่างจำเพาะ ป้องกันการเสื่อมสภาพของโปรตีนเนื่องจากความเครียดต่าง ๆ เพื่อซ่อมแซมโปรตีนที่ถูกทำลายภายในเซลล์ ดังนั้น การแสดงออกของยีนที่กำหนดรหัสโปรตีนกลุ่มนี้ ถูกกระตุ้น

โดยโปรตีนที่เสื่อมสภาพ แต่ยังไม่ทราบถึงกลไกที่แน่ชัดว่าเซลล์มีระบบการส่งสัญญาณอย่างไร แต่การแสดงออกในระดับการถอดรหัสของยีนกลุ่มนี้ ถูกควบคุมโดย ฮีตช็อกทรานสคริปชันแฟคเตอร์ (*heat shock transcription factor: Hsfs*) ในการตอบสนองต่อความเครียดเนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น รวมทั้งความเครียดอื่นๆ เช่น โลหะหนัก แบคทีเรีย หรือ ไวรัส เป็นต้น (Krishnan *et al.*, 2011) จึงจัดได้ว่า *Hsfs* เป็นศูนย์กลางการควบคุมการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อความเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสูง (Lin *et al.*, 1984; Yarwood *et al.*, 1961; Yarwood *et al.*, 1967)

ขั้นตอนแรกของการตอบสนองต่อความเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสูง คือ *Hsfs* รับสัญญาณความเครียดจากเซลล์ แล้วส่งต่อไปยังระบบการถอดรหัส (transcription apparatus) เพื่อกระตุ้นการถอดรหัสของยีนที่กำหนดรหัสโปรตีนฮีตช็อก ซึ่ง *Hsfs* นี้เหมือนกับ ทรานสคริปชันแฟคเตอร์ทั่วไป คือ เป็นโปรตีนที่มีโมเลกุลด้าน N-terminal เป็น DNA binding domain โครงสร้างแบบ helix-turn-helix เพื่อจับ *cis*-regulatory element ที่จำเพาะบนสายดีเอ็นเอ ต่อ ด้วย heptad hydrophobic repeat (HR-A/B) และมีส่วนเปปไทด์สัญญาณไปยังนิวเคลียส (nuclear localization signal) ส่วน C-terminal เป็น activation domain ที่มีกรดอะมิโน มีลักษณะเป็นวงแหวน ไม่ชอบน้ำ และมีคุณสมบัติเป็นกรด (aromatic, hydrophobic และ acid amino acid) ที่เรียกว่า AHA motif (Nover *et al.*, 2001) จากโครงสร้างพื้นฐาน สามารถแบ่ง *Hsfs* ในพืชได้เป็น 3 กลุ่ม คือ A, B และ C โดยที่ AHA motif เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างที่สำคัญของกลุ่ม A ส่วนกลุ่ม B และ C นั้น ไม่มี (Kotak *et al.*, 2004) โดยการกระตุ้นการถอดรหัสของกลุ่มยีนที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิสูง คือ *Hsfs* เข้าจับที่ตำแหน่งจดจำ Heat shock element (HSE) ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 5' nGAAn-3' ซึ่งมีตำแหน่งทางด้านปลาย 5' ของโพรโมเตอร์ของยีนที่เกี่ยวข้อง โดยยีนกลุ่มนี้อาจจะมีรูปแบบการตอบสนองต่อความเครียดที่แตกต่างกัน

ได้มีหลักฐานที่แน่ชัดว่าทั้ง *Hsfs* และ *Hsps* นั้นมีบทบาทที่สำคัญในการตอบสนองต่อสภาวะเครียดในระดับโมเลกุลเนื่องจากอุณหภูมิสูง (heat stress) ดังนั้นจึงทำให้ทั้ง *Hsfs* และ *Hsps* ได้รับความสนใจ ถึงการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกในระดับการถอดรหัสของยีนทั้งสองในช่วงระยะการพัฒนาละอองเกสร และในเนื้อเยื่ออับเรณู เมื่ออยู่สภาวะอุณหภูมิสูง

Lohman *et al.* (2004) ศึกษา ยีน *Heat shock transcription factor (Hsfs)* โดยทำการยับยั้งการแสดงออก (knock-out) ยีนกลุ่มนี้ในอะราบิโดปซิส (*Arabidopsis*) คือ *AtHsf1* และ *AtHsf3* ซึ่งพบว่า ยีน *Hsfs* เป็นยีนที่มีการตอบสนองต่อสภาพอุณหภูมิสูง โดยมีหน้าที่ควบคุมการถอดรหัสของยีน *Heat shock (Hsps)* ให้มีการแสดงออกแบบชั่วคราว

Shravan *et al.* (2002) ศึกษา มะเขือเทศตัดแปลงพันธุกรรมโดยการถ่ายฝากยีน *Heat shock transcription factor (Hsfs)* พบว่า เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะความเครียดจากอุณหภูมิสูง มีการแสดงออกของยีน *HsfA1* เพิ่มขึ้น 10 เท่า ซึ่ง ยีน *Hsfs* เป็นสื่อกลางในการส่งสัญญาณเพื่อกระตุ้นการตอบสนองของความเครียดจากความร้อน รวมทั้งความเครียดจากสารเคมีต่าง ๆ โดยที่สภาวะความเครียดนั้น จะเหนี่ยวนำแสดงออกและสะสมผลิตภัณฑ์ของยีน *Hsps* ซึ่งเป็นโมเลกุล chaperon ที่ไม่เพียงแต่ป้องกันความเสียหายของโปรตีนเท่านั้น ยังช่วยให้เกิดการม้วนพับ และป้องกันการเสื่อมสภาพของโปรตีนอีกด้วย

William *et al.* (2007) รายงานการตอบสนองของยีน *heat shock transcription factor (Hsfs)* และ *heat shock protein (Hsps)* ใน *Arabidopsis* ที่สภาวะอุณหภูมิสูง และอุณหภูมิปกติ พบว่า การแสดงออกของยีน *Hsfs* และ *Hsps* ที่ชัดเจนพบได้จากภายใต้รูปแบบของความเครียดจากแสง ultraviolet-B ในยอด และราก โดยปกติแล้วยีน *Hsfs* และ *Hsps* จะแสดงออกเมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยความเครียดจากอุณหภูมิสูง ความเย็น ความเค็ม และ ออกซิเดติก โดยมีรูปแบบการแสดงออกของยีนที่เฉพาะเจาะจงกับเนื้อเยื่อ ตัวอย่างเช่น โปรตีน *Hsps 20* มีการตอบสนองที่โดดเด่นต่อสภาวะเครียด โปรตีน *Hsps 70* และ *Hsps 100* มีการแสดงออกที่สูงขึ้นในเนื้อเยื่อรากนาน 12 ชั่วโมง หลังจากได้รับความเครียด

การออกดอกและการพัฒนาดอกโดยกลุ่มยีน MADS box

อนูศักดิ์ (2548) พบว่า ยีน *MADS box* พบได้ทั้งในพืช และสัตว์ จากการศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลทำให้ทราบว่า *MADS box* ยีนทำหน้าที่ควบคุมลักษณะต่าง ๆ ของพืช ขึ้นต่ำไปจนถึงพืชดอก ซึ่งโครงสร้างดอกของพืชส่วนใหญ่มีการอนุรักษ์โครงสร้างให้เหมือนเดิมเพื่อการสืบพันธุ์ และอยู่รอดของพืช แต่อาจมีความแตกต่างกันที่จำนวน ขนาด และตำแหน่งของส่วนต่าง ๆ ภายในดอกโดยโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนของกลีบ ได้แก่ กลีบเลี้ยง และกลีบดอก และส่วนของอวัยวะสืบพันธุ์ (reproductive organ) ได้แก่ เกสรเพศผู้ และ

เกสรเพศเมีย ในการอนุรักษ์โครงสร้างของดอกนั้นเกี่ยวข้องกับ homeotic gene ที่ทำหน้าที่ในการกระตุ้นกระบวนการ transcription ของยีนที่ควบคุมรูปแบบ และตำแหน่งของส่วนสำคัญในพืช เช่น MADS box gene ซึ่งควบคุมการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตทางลำต้น การเจริญเติบโตของส่วนสืบพันธุ์ และควบคุมเอกลักษณ์ของส่วนต่าง ๆ ภายในดอก จากการศึกษาเกี่ยวกับ MADS box gene ใน *Arabidopsis thaliana* และ *Antirrhinum majus* จึงเกิด ABC model เพื่อใช้อธิบายเกี่ยวกับการพัฒนาส่วนประกอบของดอกที่อยู่ตำแหน่งเฉพาะเจาะจงบนดอกของพืช โดยยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างส่วนประกอบของดอกทั้ง 4 วง คือ กลีบเลี้ยง กลีบดอก เกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมีย สามารถแบ่งยีนเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม A B และ C โดยยีนกลุ่ม A จะควบคุมวงกลีบเลี้ยง และกลีบดอก ยีนกลุ่ม B ควบคุมวงกลีบดอก และเกสรเพศผู้ ยีนกลุ่ม C ควบคุมวงเกสรเพศผู้ และเพศเมีย ในการทำงานของยีนอาจทำงานเพียงกลุ่มเดียว หรือเป็นคู่ แต่ยีนในกลุ่ม A และ C ไม่ทำงานร่วมกัน ซึ่งการศึกษาใน *Arabidopsis thaliana* พบว่า

ยีนกลุ่ม A ประกอบด้วย *APETALA1 (AP1)*, *APETALA2 (AP2)* และ *LEUNIG (LUG)*

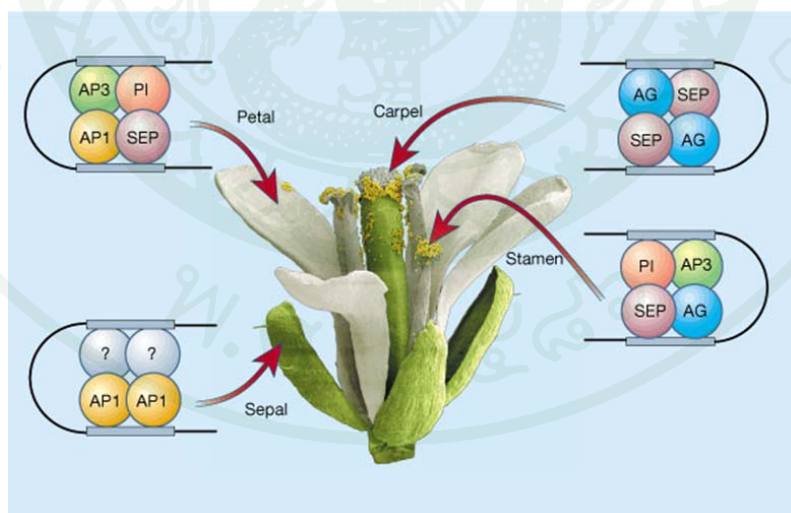
ยีนกลุ่ม B ประกอบด้วย *APETALA3 (AP3)* และ *PISTILLATA (PI)*

ยีนกลุ่ม C ประกอบด้วย *AGAMOUS (AG)*

ในการเกิดลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ควบคุมเอกลักษณ์ในส่วนเกสรเพศผู้ซึ่งได้แก่ยีนในกลุ่ม B และ C มีผลทำให้เกสรเพศผู้มีโครงสร้างผิดปกติหรือไม่สามารถทำงานได้ หรือทำให้ส่วนของเกสรเพศผู้ไม่ปรากฏ การศึกษาใน *Antirrhinum majus* พบยีนที่มีวิวัฒนาการ และหน้าที่คล้ายกับยีน *AP1*, *AP3*, *PI* และ *AG* ใน *Arabidopsis* ได้แก่ยีน *SQUAMOSA (SQUA)*, *DEF GLOBOSA (GLO)* และ *PLENA (PLE)* หากเกิดความผิดปกติของยีนเหล่านี้ในพืชทำให้โครงสร้างของดอกเปลี่ยนแปลงได้ เช่น การศึกษาในพิทูเนียพบยีนในกลุ่ม A คือ ยีน *BLIND (BL)* เกิดการทำงานผิดปกติ เป็นผลให้ส่วนของกลีบเลี้ยงเปลี่ยนเป็นเนื้อเยื่อ stigmatoid ส่วนกลีบดอกเปลี่ยนเป็นโครงสร้าง antheriod ที่มีละอองเรณูปกติ และยีน *GREEN PETAL (GP)* ส่งผลต่อส่วนของกลีบดอกเปลี่ยนเป็นกลีบเลี้ยงแต่ยังคงมีส่วนของกลีบเลี้ยง เกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมียที่ปกติ ส่วนการศึกษาใน *Arabidopsis* ที่เกิดการไม่ทำงานของยีนกลุ่ม B คือ ยีน *PI* หรือ *AP3* ส่งผลให้ส่วนของกลีบดอก และเกสรเพศผู้ถูกแทนด้วยส่วนของ

กลีบเลี้ยง และเกสรเพศเมียตามลำดับ ถ้าพบยีน AG ซึ่งอยู่ในกลุ่ม C ไม่ทำงานจะมีผลต่อส่วน
ของเกสรเพศผู้ และเกสรเพศเมียถูกแทนที่ด้วยส่วนของกลีบดอก และกลีบเลี้ยงตามลำดับ เมื่อมี
การศึกษาเพิ่มเติมพบว่า มียีนบางส่วนไม่เป็นไปตามกฎ ABC model เช่น ใน *Arabidopsis* พบ
ยีน *SEPALLATA1/2/3* (*SEP1/2/3*) ทำหน้าที่ควบคุมเอกลักษณ์ชั้นกลีบดอก เกสรเพศผู้ และเกสร
เพศเมีย ซึ่งต่อมาจึงได้เสนอข้อมูลใหม่เกี่ยวกับ quartet model โดยจัดยีนที่ไม่เป็นไปตามกฎ ABC
model เป็นยีนกลุ่มใหม่ คือ กลุ่ม E มีหน้าที่ควบคุมเอกลักษณ์ของชั้นกลีบดอก เกสรเพศผู้ และ
เกสรเพศเมีย (ประทุมพร, 2551) (ภาพที่ 1)

Martinez-Castilla and Alvarez-Buylla (2003) ยีน *MADS box protein* เป็นยีนแฟมิลี
มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 8 พบได้ทั่วไปใน พืชสัตว์ และเชื้อรา ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้อง
กระบวนการพัฒนาของสิ่งมีชีวิต ยีนนี้มีบทบาทในกระบวนการพัฒนาของดอก ผล ออวูล และ
เอ็มบริโอของพืช พบว่า มียีน *MADS box* จำนวน 5 ยีนใน *Arabidopsis thaliana* ที่แสดงออกใน
เซลล์คุม ขน ราก ละอองเรณู และแอนโดสเปิร์ม โดยส่วนใหญ่ยีนนี้ใน *Arabidopsis thaliana* เป็น
ชนิดที่ 1 (type I) แต่ยีนที่ควบคุมการออกดอก (ABC model) คือ ชนิดที่ 2 (type II) โครงสร้างของ
ยีนชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 แสดงออก และกระจายตัวอยู่บนโครโมโซมที่แตกต่างกัน



ภาพที่ 1 โครงสร้าง quartet model ใน *Arabidopsis*

ที่มา: Gunter and Saedler (2001)

การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีก่อกลายพันธุ์ (mutation)

การกลายพันธุ์ คือ การเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม ที่นำไปสู่การเปลี่ยนแปลงลักษณะที่แสดงออก (phenotype) ซึ่งการกลายพันธุ์นี้แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ

1. การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) เป็นผลจากรังสีสารเคมี หรืออุณหภูมิที่มีอยู่ในธรรมชาติ
2. การกลายพันธุ์ที่เกิดจากการชักนำ (induced mutation) หรือการกระตุ้นด้วยสารก่อการกลายพันธุ์

โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระดับยีน จะเรียกว่า การกลายพันธุ์ของยีน (gene mutation) และการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระดับโครโมโซม เรียกว่า การกลายพันธุ์ของโครโมโซม (chromosome mutation) (สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย และ สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2548)

สิ่งก่อกลายพันธุ์ที่นำมาใช้ร่วมกับพืชมีผลให้เกิดการกลายพันธุ์แบบสุ่ม แบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ได้แก่

1. รังสี

หมายถึง พลังงานที่ปลดปล่อยออกมาในรูปคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า หรือโฟตอน หรืออนุภาคที่มีขนาดเล็ก จำแนกได้ 2 ประเภท คือ รังสีที่ไม่ก่อให้เกิดไอออน (non-ionizing radiation) เช่น UV ทำให้เกิด pyrimidine dimer และรังสีที่ก่อให้เกิดไอออน (ionizing radiation) เช่น รังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ รังสีแอลฟา รังสีเบต้า อิเล็กตรอน นิวตรอน โปรตรอน และอนุภาคอื่น ๆ

รังสีทำให้อะตอมต่าง ๆ ภายในเซลล์เกิดการแตกตัวเป็นไอออน และก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในเซลล์ ทำให้เซลล์ตาย หรือขัดขวางการแบ่งเซลล์ ซึ่งรังสีทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงข้อมูลพันธุกรรมที่สามารถตรวจสอบได้ดังนี้

1. เกิดการสลายตัวของพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ที่เชื่อมระหว่างคู่เบสในโมเลกุลดีเอ็นเอ
2. เกิดการขาดระหว่างพันธะที่ทำหน้าที่เป็น backbone ของดีเอ็นเอ (phosphate diester bond) ทำให้เกิด single strand break และ double strand break
3. เกิดการแตกหักของพันธะโควาเลนต์ (covalent bond)
4. เกิด crossing-linkage ระหว่างสายและภายในสายของดีเอ็นเอ
5. เกิด dimer ระหว่าง pyrimidine base ภายในสายดีเอ็นเอ สายใดสายหนึ่ง
6. เกิด DNA-protein crosslink การเชื่อมต่อระหว่างเบส และกรดอะมิโนด้วย sulfide linkage (จันทกานต์, 2544)

2. สารเคมี

สารเคมีที่ชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด สารบางชนิดทำปฏิกิริยากับ ดีเอ็นเอ โดยตรง บางชนิดเหนี่ยวนำให้เกิดการจำลองแบบ DNA เส้นใหม่ โดยสารเคมีนี้จะเข้าไปแทนที่เบสของดีเอ็นเอทำให้เกิดความผิดปกติในองค์ประกอบของดีเอ็นเอ เช่น สารโคลชิซิน (colchicine) เกิดการเพิ่มจำนวนชุดของโครโมโซม สารไดคลอวอส (dichlovos) ที่ใช้กำจัดแมลง และพาราควอต (paraquat) ที่ใช้กำจัดวัชพืช สามารถทำให้เกิดการผิดปกติของโครโมโซมในคนและสัตว์ได้ เป็นต้น (มาลินี, 2547)

การพัฒนาประชากรสายพันธุ์กลายแบบ TILLING project

การพัฒนาประชากรสายพันธุ์กลายแบบถาวรโดยชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยการใช้สารเคมีหรือรังสี เป็นการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์แบบสุ่มทั้ง จีโนมแล้วติดตามการกลายพันธุ์เฉพาะตำแหน่งยีนที่ควบคุมลักษณะที่สนใจ โดยการใส่ Gene-specific primer จากลำดับ

เบสของยีนต้องการ เพื่อคัดเลือกข้าวสายพันธุ์กลายที่มีจีโนมไทป์เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ปกติ ระบบการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ดังกล่าวนี้เรียกว่า TILLING (Targeting Induced Local Lesion IN Genomes) ซึ่งสามารถตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงได้ในระดับจีโนมไทป์ตั้งแต่รุ่น M_1 ในรูปแบบ Heterozygous genotype โดยใช้เทคนิคด้านดีเอ็นเอ ได้แก่ PCR, dHPLC, SSCP, SSCP และ DNA Sequencing แล้วติดตามผลทางลักษณะฟีโนไทป์ที่เปลี่ยนแปลงไปตามที่สนใจ ซึ่งสามารถประเมินลักษณะทางฟีโนไทป์ในประชากรข้าวสายพันธุ์กลายได้ในรุ่น M_2 จากการศึกษาของ (Gilchrist *et al.*, 2006) Till *et al.* (2003) พบว่า TILLING เป็นเทคนิคคัดกรองความแปรปรวนในระดับพันธุกรรมที่มีประสิทธิภาพสูง และสามารถให้ได้กับสิ่งมีชีวิตหลายชนิด

ประโยชน์ของการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลาย

สายพันธุ์ของข้าวสายพันธุ์กลายครั้งนี้ได้ใช้ข้าวเจ้าหอมนิลซึ่งเป็นข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสงจึงทำการเพาะปลูกได้ 3 ครั้งต่อปี อายุเก็บเกี่ยว 90-100 วัน ระดับความสูง 50-60 เซนติเมตร แตกกอดี มีลักษณะการให้ผลผลิตที่ดี มีคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งเมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วยรังสี หรือสารเคมีเกิดการกลายพันธุ์ได้ง่าย จึงมีโอกาสในการค้นพบยีนกลายพันธุ์ตามเป้าหมายได้สูงกว่าข้าวพันธุ์อื่น อีกทั้งยังได้เปรียบในเรื่องสีเมล็ด ใบ และลำต้นที่แตกต่างจากข้าวทั่วไปอย่างชัดเจนแล้วสามารถนำมาผสมเข้ากับข้าวได้ดีเกือบทุกสายพันธุ์ ซึ่งประโยชน์ที่ได้รับจาก TILLING คือได้ข้าวสายพันธุ์กลายลักษณะใหม่ ๆ ที่ไม่เคยพบมาก่อน และสามารถนำข้าวสายพันธุ์กลายที่ได้ไปใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ได้อย่างหลากหลาย เนื่องจากผลผลิตที่ได้จากการก่อการกลายพันธุ์ไม่ถือว่าเป็น GMOs หลักฐานที่พบคือ ตำแหน่งการกลายพันธุ์หลาย ๆ ตำแหน่งในประชากรกลายพันธุ์สามารถพบได้ในแหล่งพันธุกรรมข้าวในธรรมชาติด้วยเช่นกัน (ศิริพัฒน์ และคณะ, 2553)

การสร้างประชากรข้าวเจ้าหอมนิล

หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ได้รับความร่วมมือจากสำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ (office of atoms for peace) เพื่อสร้างประชากรเจ้าหอมนิลกลายพันธุ์ขนาดใหญ่ ด้วยการนำเมล็ดข้าวเจ้าหอมนิล (เมล็ดรุ่น M_0) จำนวน 100,000 เมล็ด ไปฉายรังสี fast neutron ที่ระดับ 33 เกรย์ ซึ่งรังสี fast neutron เป็นอนุภาครังสี (particulate radiation) ที่ได้จากเตาปฏิกรณ์ปรมาณู ที่เกิดจากการแตกตัวของ

นิวเคลียสของธาตุยูเรเนียม-223 ในลักษณะปฏิกิริยาลูกโซ่ มีพลังงานตั้งแต่ 10 KeV จนถึง 10 MeV มีคุณสมบัติในการถ่ายเทปริมาณพลังงานสูง โดยทำให้เกิดปฏิกิริยา ionization และเกิดการแตกหักของพันธะเคมีในองค์ประกอบของยีน ซึ่งเซลล์ที่ถูกชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมในลักษณะ heterozygous genotype สามารถตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมได้ (เนริศา, 2550) จากนั้นปลูก M_1 ของแต่ละสายพันธุ์ในรูปแบบเพลท 96 ตัวอย่าง เพื่อเก็บเมล็ด M_2 จากนั้นรวมเมล็ด M_2 ที่ได้จากต้น M_1 ต้นเดียวกันรวมเข้าด้วยกันและจึงสุ่มเมล็ด M_2 มาปลูก 8 ต้น เพื่อเป็นตัวแทนของรุ่น M_3 ซึ่งปัจจุบันสามารถเก็บเมล็ดพันธุ์ในรุ่น M_4 ได้ทั้งหมด 21,024 สายพันธุ์ (ศิริพัฒน์ และคณะ, 2553)

การตรวจวัดการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค Real-time PCR (จรีรัตน์, 2553)

เทคโนโลยี Real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) หรือ kinetic polymerase chain reaction (kPCR) เป็นเทคนิคเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลองโดยตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่เพิ่มได้ในแต่ละรอบในขณะที่ปฏิกิริยากำลังดำเนินอยู่ (real-time) เพื่อวิเคราะห์หาดีเอ็นเอเป้าหมาย และตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นที่ใช้ในปฏิกิริยา ซึ่งเทคนิค PCR แบบเดิมนั้นเป็นการตรวจสอบผลผลิต ภายหลังเมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส แต่อย่างไรก็ดี วิธีการของเทคนิค Real-time PCR นี้ เหมือนกับเทคนิค PCR มาตรฐาน แต่มีการดัดแปลงเพิ่มขึ้นตอนการตรวจสอบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ในแต่ละรอบโดยการประยุกต์ใช้สารฟลูออเรสเซนต์ในการรายงานผล ซึ่งการตรวจสอบนี้สามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธี คือ 1) การใช้สารฟลูออเรสเซนต์ที่มีคุณสมบัติเรืองแสงเมื่อจับกับดีเอ็นเอสายคู่ (เช่น SYBR Green I) จึงสามารถติดตามปริมาณดีเอ็นเอสายคู่ที่เพิ่มขึ้นจากปฏิกิริยาในแต่ละรอบได้จากระดับสัญญาณการเรืองแสง และ 2) การใช้ดีเอ็นเอโพรบ (oligonucleotide probe) ที่ดัดแปลงให้มีคุณสมบัติปล่อยสัญญาณการเรืองแสงของสารฟลูออเรสเซนต์เมื่อเกิดการไฮบริดเซชันกับดีเอ็นเอเป้าหมายจึงสามารถตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายที่เพิ่มขึ้นในแต่ละรอบได้จากระดับสัญญาณการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ที่ปล่อยออกมา ซึ่งภายในเครื่อง PCR (Thermal cycler) มีระบบตรวจวัดระดับสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ (computer-controlled cooled CCD) ที่เกิดขึ้นในแต่ละรอบ ปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายที่เพิ่มขึ้นเป็นผลทำให้ระดับสัญญาณฟลูออเรสเซนต์เพิ่มขึ้นตามไปด้วย ระบบของเครื่อง Real-time PCR จะทำการตรวจวัดระดับสัญญาณที่เกิดขึ้นในแต่ละรอบและสร้างเป็นกราฟระหว่างปริมาณสัญญาณฟลูออเรสเซนต์ กับจำนวนรอบ (cycle number) (ภาพที่ 2) กราฟที่ได้นี้

แสดงให้เห็นถึงจลนพลศาสตร์ (kinetics) ของปฏิกิริยา PCR ซึ่งจะเห็นได้ว่าความเร็วของการเกิดปฏิกิริยาสะสมสารฟลูออเรสเซนซ์ที่ระดับตรวจวัดสัญญาณได้ มีความแปรผันตรงกับปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้น (ภาพที่ 2) กล่าวคือ ถ้ามีดีเอ็นเอเริ่มต้นปริมาณมาก ความเร็วของการเกิดปฏิกิริยาสะสมของสารฟลูออเรสเซนซ์ในระดับที่ตรวจสอบได้ เกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว ใช้ปฏิกิริยาการเพิ่มจำนวนน้อยรอบ แต่ถ้ามีดีเอ็นเอเริ่มต้นปริมาณน้อย การสะสมของสารฟลูออเรสเซนซ์เกิดขึ้นได้ช้า ต้องใช้จำนวนรอบมากกว่า (ภาพที่ 3) ดังนั้นจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยา PCR นี้จึงสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นในปฏิกิริยาได้ หลักการหาปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นด้วยเทคนิค Real-time PCR จึงเป็นการวิเคราะห์หาจำนวนรอบที่ใช้ (cycle number) ที่ทำให้สามารถเริ่มต้นตรวจสอบผลิตภัณฑ์ได้ คือตำแหน่งเริ่มต้น exponential phase ของกราฟ แต่อย่างไรก็ดีการวิเคราะห์หาจำนวนรอบนั้น จะต้องกำหนดค่า threshold ที่เหนือระดับสัญญาณของ background และผ่านช่วง exponential phase ของกราฟปฏิกิริยาจากทุกตัวอย่าง (ภาพที่ 3) แล้วนำจำนวนรอบที่ตรงกับค่า threshold (Threshold cycle; C_T) ที่ได้จากแต่ละตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นซึ่งสามารถทำได้ 2 วิธี คือ

1. การวิเคราะห์หาปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นเป็นค่าสัมบูรณ์ (absolute quantification) โดยนำดีเอ็นเอเริ่มต้นที่ทราบปริมาณแน่นอนแล้ว ซึ่งอาจมีหน่วยเป็นความเข้มข้น หรือจำนวนโมเลกุลที่ระดับต่าง ๆ วิเคราะห์หาค่า C_T ของแต่ละระดับ แล้วนำมาสร้างเป็นกราฟมาตรฐานระหว่างค่า C_T กับ ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นมาตรฐาน (ภาพที่ 3) จากนั้นจึงนำค่า C_T ของตัวอย่างดีเอ็นเอที่ต้องการวิเคราะห์มาเทียบกับกราฟมาตรฐาน

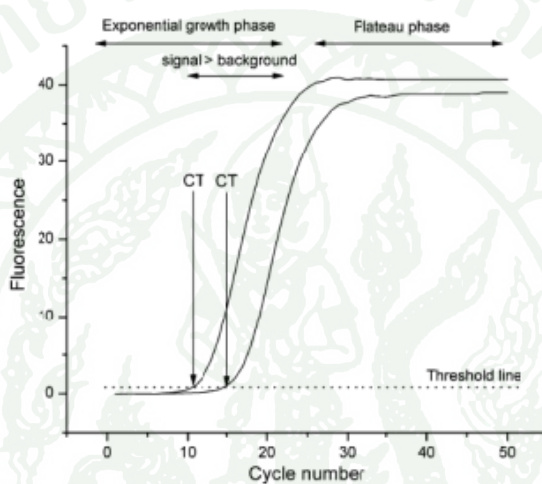
2. การวิเคราะห์หาปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นเป็นค่าการเปรียบเทียบ (relative quantification) เป็นการหาปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นที่แตกต่างกันระหว่าง 2 ตัวอย่าง โดยการเปรียบเทียบจากค่า C_T ซึ่งค่าที่ได้แสดงออกมาเป็นจำนวนเท่า (fold change) วิธีนี้มักใช้ในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน การเปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนนี้ด้วยวิธีนี้ ตัวอย่างที่ใช้เป็นตัวควบคุม (control) เรียกว่า calibrator ถึงแม้ว่า วิธีการนี้ไม่ต้องใช้กราฟมาตรฐาน แต่ก่อนที่จะทำการเปรียบเทียบจะต้องปรับ (normalize) ค่า C_T ของตัวอย่าง และ calibrator ด้วยค่า C_T ของยีนที่ใช้เป็น internal standard หรือ reference gene (house keeping genes เช่น actin, GAPDH, 18SrRNA เป็นต้น) จำนวนเท่าของการแสดงออกของยีน

(expression level) คำนวณได้จากวิธี delta/delta C_T ($\Delta\Delta C_T$ method) (Livak and Schmittgen, 2001) จากสมการ

$$R = 2^{-\Delta\Delta C_T}$$

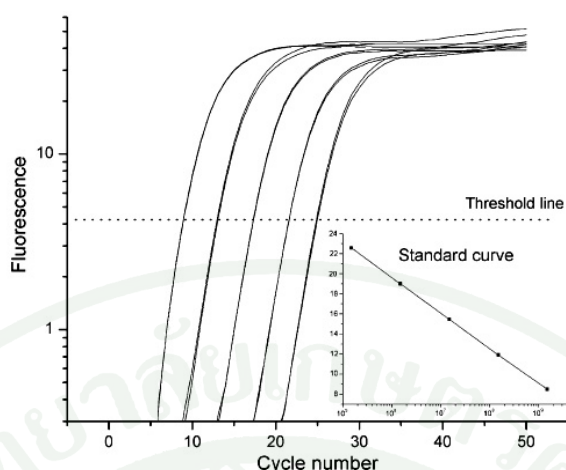
$$R = 2^{-(\Delta C_T \text{ sample} - \Delta C_T \text{ calibrator})}$$

$$R = 2^{-[(C_T \text{ sample} - C_T \text{ house keeping gene}) - (C_T \text{ calibrator} - C_T \text{ house keeping gene})]}$$



ภาพที่ 2 กราฟแสดงปฏิกิริยา Real-time PCR ค่า threshold ตั้งให้เหนือตำแหน่งของ background

ที่มา: Kubista *et al.* (2006)



ภาพที่ 3 แสดงการสร้างกราฟมาตรฐานของเทคนิค Real-time PCR

ที่มา: Kubista *et al.* (2006)

การนำเทคนิค Real-time PCR ร่วมกับเทคนิค reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) มาใช้วิเคราะห์การแสดงออกของยีนสามารถทำได้ 2 วิธีตามที่กล่าวมาข้างต้น จะเลือกวิธีใดนั้นขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการวิจัย และเป้าหมายของการรายงานผล ดีเอ็นเอเริ่มต้นที่ใช้ อาจเป็น cDNA โดยสกัดอาร์เอ็นเอ นำมาสังเคราะห์เป็น cDNA ด้วยปฏิกิริยา reverse transcription แล้วจึงนำมาใช้เป็นดีเอ็นเอเริ่มต้นสำหรับปฏิกิริยา Real-time PCR (two steps real-time RT-PCR) หรืออาจใช้อาร์เอ็นเอเป็นตัวตั้งต้นเลยก็ได้ โดยทำปฏิกิริยาทั้งสองขั้นตอนนี้ภายในหลอดเดียวกัน (one step real-time RT-PCR) แต่ละวิธีมีข้อดี ข้อด้อย แตกต่างกันไป เนื่องจากอาร์เอ็นเอเป็นกรดนิวคลีอิกที่ไวต่อการถูกทำลาย ดังนั้นในปฏิบัติการนี้ จึงเลือกใช้วิธี two steps real-time RT-PCR ตรวจสอบการแสดงออกของยีนเป้าหมาย โดยเปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนระหว่างตัวอย่าง 2 ตัวอย่างด้วยวิธี $\Delta\Delta C_T$ ($\Delta\Delta C_T$ method) ที่ติดตามและตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาด้วยสารเรืองแสง SYBR Green ซึ่งมีคุณสมบัติการเรืองแสงเมื่อจับกับดีเอ็นเอสายคู่

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับการปลูกและดูแลรักษาข้าว

1.1 ข้าวสายพันธุ์กลายเจ้าหอมนิลที่ได้จาก TILLING project ข้าวที่ 5 (M_0) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์กลายเบอร์ M9962 (ทนทานต่ออุณหภูมิสูง) M7988 (ทนทานปานกลางต่ออุณหภูมิสูง) และ M7766 (ไม่ทนทานต่ออุณหภูมิสูง) และพันธุ์เจ้าหอมนิล JHN (พันธุ์ควบคุม)

1.2 โรงเรือนร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส ในเวลากลางวัน

1.3 กระถางปลูกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร

1.4 ถาดเพาะเมล็ดข้าว

1.5 ดินเหนียว

2. อุปกรณ์การสกัด RNA และ Real Time PCR

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัด RNA และ Real Time PCR เช่น

2.1.1 โกร่งสำหรับบดตัวอย่างจากเนื้อเยื่อพืช

2.1.2 ปิเปตอัตโนมัติ ขนาด 1,000 200 20 10 และ 2 ไมโครลิตร

2.1.3 กระจกตวง (cylinder)

2.1.4 ปีกเกอร์ (beaker)

2.1.5 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (centrifuge) (Kubota รุ่น 3740)

2.1.6 ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 4, -20 และ -80 องศาเซลเซียส

2.1.7 ก่อ้งควบคุมอุณหภูมิ (heating block)

2.1.8 เครื่อง Gel electrophoresis (Bioneer รุ่น Agaro-Power™)

2.1.9 เครื่อง Real time PCR (Bio-Rad รุ่น C 1000 Touch Thermal cycle)

2.1.10 เครื่องผสมสาร (vortex)

2.1.11 เครื่อง Nanodrop (Thermo Scientific รุ่น NANODROP™ 8000)

2.1.12 หม้อนึ่งความดัน (autoclave)

2.1.13 เครื่อง PCR (Applied Biosystems รุ่น PE 9700 (96 wells))

2.1.14 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการสกัด RNA

2.2.1 ชุดน้ำยาสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป Trizol (Invitrogen)

2.2.2 คลอโรฟอร์ม (chloroform)

2.2.3 ไอโซโพรพานอล (isopropanol)

2.2.4 เอทานอล ความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ (75% ethanol)

2.2.5 น้ำบริสุทธิ์สูง (ultrapure water)

2.3 สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์ cDNA

2.3.1 ชุดน้ำยาสำเร็จรูปสำหรับสังเคราะห์ cDNA สายแรก (RT-PCR cDNA synthesis kit: BIO RAD)

2.4 สารเคมีที่ใช้สำหรับปฏิกิริยา Real time PCR

2.4.1 qPCR kit (KAPA)

2.5 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจความมีชีวิตและการงอกของละอองเกสร

2.5.1 สาร I₂KI stain

3. อุปกรณ์อื่น ๆ

3.1 จานเพาะเชื้อ (petri dish)

3.2 กล้องจุลทรรศน์ (light microscope) (Olympus รุ่น CX21)

3.3 กล้องสเตอริโอไมโครสโคป (stereomicroscope) (Leica รุ่น EZ4HD)

3.4 หลอดทดลองขนาด 0.2, 1.5 และ 2 ไมโครลิตร

วิธีการ

การปลูก และดูแลรักษาข้าวในสภาพอุณหภูมิสูง (high temperature) และอุณหภูมิปกติ (Natural temperature)

ปลูกข้าวใน 2 สภาพ คือ สภาพแปลงทดลอง(อุณหภูมิตามธรรมชาติ) และสภาพโรงเรือนทดลอง (อุณหภูมิสูง) โดยปลูกสายพันธุ์ข้าวลงในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร แบ่งข้าวส่วนหนึ่งเข้าสู่โรงเรือนร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิสูง 40-45 องศาเซลเซียส ในเวลากลางวัน นาน 6 ชั่วโมงต่อวัน ตั้งแต่ 10.00 น. ถึง 16.00 น. และอุณหภูมิกกลางคืนที่ 28-30 องศาเซลเซียส จนถึงระยะเก็บเกี่ยว (R_9) โดยปลูก 2 ฤดู ดังนี้

ฤดูปลูกที่ 1 เริ่มปลูกเดือนตุลาคม พ.ศ. 2555 และเก็บเกี่ยวเดือนมกราคม พ.ศ. 2556 จำนวน 20 กระถางต่อสายพันธุ์ เมื่อข้าวเริ่มเข้าระยะตั้งท้อง จึงนำต้นข้าวจำนวน 10 กระถางไปไว้ในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิสูง และอีก 10 กระถางไว้ที่อุณหภูมิปกติ ในแต่ละสภาพปลูกแบ่งเป็น 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 กระถาง และบันทึกข้อมูล

ฤดูปลูกที่ 2 เริ่มปลูกเดือนมิถุนายน และเก็บเกี่ยวเดือนกันยายน พ.ศ. 2556 ทำการปลูกทั้งหมด 120 กระถางต่อสายพันธุ์ เมื่อข้าวเข้าสู่ระยะตั้งท้อง นำต้นข้าวเข้าโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิสูงจำนวน 60 กระถาง และอีก 60 กระถางไว้ที่อุณหภูมิปกติ โดยแต่ละสภาพปลูกมี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 กระถาง และบันทึกข้อมูล

การบันทึกข้อมูล

1. เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด (seed set %)

บันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดเมื่อข้าวถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาทั้งในสภาพอุณหภูมิปกติ และสภาพอุณหภูมิสูง เก็บเกี่ยวรวงข้าวอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน นำไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักแห้งของรวง จากนั้นนำรวงข้าวขนาดเมล็ดออกด้วยมือแล้วคัดแยกเมล็ดดี และเมล็ดลีบออกจากกันเพื่อคำนวณหา น้ำหนักของจำนวนเมล็ดดี 100 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดดีต่อต้น และเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดดี}}{\text{เมล็ดดี} + \text{เมล็ดลีบ}} \times 100$$

2. ความมีชีวิตของละอองเกสร

ใช้สาร I₂KI stain ตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร ตามวิธีของ Hu *et al.* (2009) โดยเก็บละอองเกสรจากดอกย่อยบนรวงที่มีการบานของดอกพร้อมกัน ย้อมสีละอองเกสรแล้ว ตรวจสอบความมีชีวิตภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (light microscope) นับจำนวนประชากร 5 จุด ต่อ 1 สไลด์ ถ่ายภาพ และคำนวณเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเกสร โดยละอองเกสรที่ติดสีน้ำตาลเข้ม คือ ละอองเกสรที่มีชีวิต ส่วนละอองเกสรที่ติดสีเหลืองอ่อน คือ ละอองเกสรที่ไม่มีชีวิต

3. การบันทึกข้อมูลทางการเกษตรอื่น ๆ

ในฤดูปลูกที่ 2 ได้เก็บบันทึกข้อมูลลักษณะทางการเกษตร

- 3.1 ความสูงของต้น โดยเริ่มวัดจากโคนต้นถึงข้อของใบธง
- 3.2 จำนวนกอ นับจำนวนกอที่ระยะเก็บเกี่ยว
- 3.3 น้ำหนัก 100 เมล็ด สุ่มเมล็ดจากเมล็ดต่อต้น 100 เมล็ด เพื่อชั่งน้ำหนัก
- 3.4 น้ำหนักเมล็ดต่อต้น คัดเลือกเมล็ดดีต่อต้นไปชั่งน้ำหนัก
- 3.5 จำนวนรวง นับจำนวนรวงที่ระยะเก็บเกี่ยว
- 3.6 ความยาวรวง วัดความยาวรวงตั้งแต่คอรวงถึงปลายรวง
- 3.7 น้ำหนักรวง ชั่งน้ำหนักรวงที่มีความยาวรวงตั้งแต่ปลายรวงถึงคอรวง

วิธีการสกัดอาร์เอ็นเอ และตรวจสอบการแสดงออกของยีนโดยวิธี Real-Time PCR

การสกัดอาร์เอ็นเอ โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป Trizol reagent (Invitrogen, USA)

ทำการเก็บใบธงและดอกข้าวที่ระยะ R₂ จากข้าว 4 สายพันธุ์ โดยบดชิ้นส่วนข้าวในโกร่งที่ปลอดเชื้อและเย็นจัดด้วยไนโตรเจนเหลว แบ่งใส่ในหลอด microcentrifuge ขนาด 2 มิลลิลิตร หลอดละ 100 มิลลิกรัม จากนั้นเติม Trizol reagent (Invitrogen, USA) ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร

ลงไปในหลอดผสมตัวอย่างและสารให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง vortex ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14010 g. ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายใส่ด้านบนในหลอด microcentrifuge ขนาด 2 มิลลิลิตร หลอดใหม่ เติม คลอโรฟอร์ม (chloroform) 200 ไมโครลิตร เขย่า 15 วินาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14010 g. อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายใส่ด้านบนในหลอด microcentrifuge ขนาด 2 มิลลิลิตร หลอดใหม่ เติม ไอโซโพรพานอล (isopropanol) ในอัตราส่วนที่เท่ากับส่วนสารละลายใส่ที่ดูดได้ในข้างต้น ผสมให้เข้ากันเบา ๆ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14010 g. อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายใส่ด้านบนออกเก็บตะกอนที่ได้มาเติมเอทานอล 75 เปอร์เซ็นต์ (75% ethanol) 400 ไมโครลิตร ผสมโดยใช้เครื่อง vortex นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7880 g. อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ใช้ pipette ดูดสารละลายออกให้หมด จากนั้นตากตะกอนให้แห้งและละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 50 ไมโครลิตร เมื่อได้ total RNA แล้วนำไปตรวจสอบคุณภาพด้วย agarose gel electrophoresis และวัดปริมาณความเข้มข้นของ RNA ด้วยเครื่อง nanodrop เก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

การทำ cDNA โดย iScript kit (bio rad)

นำตัวอย่าง RNA ที่สกัดได้มาทำเป็น cDNA ด้วยชุดทดลอง iScript kit (bio rad) โดยการเตรียมสาร (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาตรสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ cDNA (bio rad)

Master mix	1X reaction (ไมโครลิตร)
5X iScript reaction mix	4.0
iScript reverse transcriptase	1.0
Nuclease-free water	X
RNA template	Y
ปริมาตรรวม	20.0

เติม RNA template 1000 นาโนกรัม ในแต่ละปฏิกิริยา และเติม Nuclease-free water เพื่อเป็นตัวปรับปริมาตร เก็บ cDNA ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน HSFs และ MADS box

ออกแบบไพรเมอร์ของยีน *OsHsfA7*, *OsHsfA9*, *OsHsfA2e*, *OsHsfA4d*, *OsHsfA2a*, *OsHsfA2b*, *OsHsfA2d*, *OsAP1* (ตารางที่ 3) เพื่อใช้ในการทำ Real-time โดยใช้ยีน *OsUbq* เป็นยีนควบคุม วัดความเข้มข้นของ cDNA ที่สังเคราะห์ได้อีกครั้งเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ 100 นาโนกรัม/ไมโครลิตร ใช้ cDNA 1 ไมโครลิตร สำหรับวิเคราะห์ปริมาณการแสดงออกของยีนโดยเทคนิค Real-Time PCR ด้วยชุดทดลอง KAPA SYBR FAST qPCR Kit (KAPA) โดยเครื่อง bio rad ซึ่งเตรียมสาร (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณสารที่ใช้ในการเตรียม Real-Time PCR (KAPA)

Reaction	Final ConC.	Volum in a 25 ไมโครลิตร
water sterile		X
2X SYBR	1X	12.5 ไมโครลิตร
primer [10 ไมโครโมล]	0.3 ไมโครโมล	0.75 ไมโครลิตร
cDNA [100 นาโนกรัม/ไมโครลิตร]	100 นาโนกรัม	1 ไมโครลิตร

ตารางที่ 3 โพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจสอบการแสดงออกของยีน *Heat shock transcription factor* และ *MADS box* โดยเทคนิค Real-time PCR

ยีน	ลำดับเบสของโพรเมอร์ (5'-3')	ขนาด (bp)
<i>OsHsfA7</i>	Forward: TCGCCAGCCTCAACACCTA Reverse: TCCATCAGCCGTTGTCTT	445
<i>OsHsfA9</i>	Forward: CTCCCACCTGCTCCAGAAAC Reverse: GAACTGCGAAAAGGCGTCCC	598
<i>OsHsfA2e</i>	Forward: TCAAGCACAACAACCTTCTCCAG Reverse: TTTGCTGCTCCTGCCTCAG	288
<i>OsHsfA4d</i>	Forward: GCTCAACACCTACGGTTTCC Reverse: GCCACTAGCCTGCCTTCC	300
<i>OsHsfA2a</i>	Forward: TTCGTAGGGTGACGTAATCG Reverse: TCGAAGCCACCGTCCTAG	288
<i>OsHsfA2b</i>	Forward: CTCAAGAACATCAAGCGTAGA Reverse: GGTTCCCTTGACGCCTATC	219
<i>OsHsfA2d</i>	Forward: GCAGCAAAGCACGAAAGC Reverse: GGACAAATCGGAGCCACT	578
<i>OsAP1</i>	Forward: TGCCACGAATATAGGAAACTGAAGG Reverse: TGCTGCTACATCCTCTATCCTTTTCG	405
<i>OsUbq</i>	Forward: CCAGGACAAGATGATCTGCC Reverse: AAGAAGCTGAAGCATCCAGC	300

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลจากการวางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD design ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่ สภาพอุณหภูมิปกติ (นอกโรงเรือน) และ สภาพอุณหภูมิสูง (ในโรงเรือน) และ สายพันธุ์ข้าว 3 สายพันธุ์ ได้แก่ เจ้าหอมนิล เจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายเบอร์ M9962, M7988 และ M7766 ด้วยการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม R (R-language and environment for statistical computing and graphics) ของข้อมูลเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละออง เกสร และฟีนไทป์ และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วย LSD (least significant difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สถานที่ทำการวิจัย

1. แปลงปฏิบัติการ ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม
2. ห้องปฏิบัติการอาร์เอ็นเอ ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

ตั้งแต่ มิถุนายน 2555 ถึง ธันวาคม 2556

ผลและวิจารณ์

จากการบันทึกข้อมูล ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด ความมีชีวิตของละอองเกสร น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดติดต่อดัน น้ำหนักรวง ความยาวรวง จำนวนรวงต่อดัน จำนวนกอต่อดัน และความสูงต้น โดยนำผลการทดลองทั้งสองฤดูปลูกมาวิเคราะห์รวมกัน และศึกษาการแสดงออกของยีน *heat shock transcription factor* และ *MADS box* ของข้าวเจ้าหอมนิล (JHN) และข้าวเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลาย (M9962 M7988 และ M7766) ภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ (30-35 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิสูง (40-45 องศาเซลเซียส) ในระยะเจริญพันธุ์ พบว่า

เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด

จากการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดของข้าวเจ้าหอมนิล (JHN) และข้าวเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลาย (M9962 M7988 และ M7766) พบว่า ในสภาพอุณหภูมิปกติมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดสูงกว่าในสภาพอุณหภูมิสูง โดยในสภาพอุณหภูมิปกติมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดเท่ากับ 72.84 เปอร์เซ็นต์ และในสภาพอุณหภูมิสูงมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดเท่ากับ 50.47 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ กฤษณา (2555) ซึ่งเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด โดยทำการทดลองข้าวไวแสง และข้าวไม่ไวแสงในสภาพอุณหภูมิปกติ (35 องศาเซลเซียส) และสภาพอุณหภูมิสูง (49.8 องศาเซลเซียส) พบว่า ข้าวทั้งสองกลุ่มที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงจะมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดต่อดันลดลง (ตารางที่ 4)

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของข้าวสายพันธุ์ JHN M9962 M7988 และ M7766 พบว่า M9962 มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดมีความแตกต่างทางสถิติกับข้าวสายพันธุ์ M7988 JHN และ M7766 ที่มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดเท่ากับ 76.11 71.82 59.86 และ 38.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ข้าวสายพันธุ์ JHN M7988 และ M7766 ที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิปกติมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดแตกต่างกันทางสถิติกับการปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง โดยมีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ 48.11 11.76 และ 69.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ข้าวสายพันธุ์ M9962 อุณหภูมิไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด มีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ 1.40 เปอร์เซ็นต์

เมื่อวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสภาพอุณหภูมิปลูก พบว่า ในสภาพอุณหภูมิปกติข้าวสายพันธุ์ JHN M9962 และ M7988 ไม่แตกต่างทางสถิติ ยกเว้นสายพันธุ์ M7766 โดยมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดเท่ากับ 78.28 76.64 76.30 และ 59.57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในสภาพอุณหภูมิสูง พบว่า สายพันธุ์ M9962 มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดสูงที่สุดเท่ากับ 75.57 ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับ JHN M7988 และ M7766 ที่ไม่แตกต่างทางสถิติกัน ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดเท่ากับ 40.9 67.33 และ 18.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ M7766 มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดต่ำที่สุด ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่สามารถทนทานต่ออุณหภูมิสูงได้เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ M9962 ที่สามารถทนทานต่ออุณหภูมิสูง เนื่องจากอุณหภูมิสูงไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด ซึ่งเป็นองค์ประกอบผลผลิตที่สำคัญ เพื่อบ่งชี้ผลผลิตต่อไร่ สอดคล้องกับรายงานของ Prasad *et al.* (2006) ได้ทดสอบข้าว 2 ชนิด ได้แก่ indica และ japonica ในสภาพอุณหภูมิปกติเฉลี่ย 30/23 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงเฉลี่ย 35/27 องศาเซลเซียส พบว่า อุณหภูมิสูงมีผลให้การติดเมล็ดลดลง โดยสายพันธุ์ข้าวจะตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงแตกต่างกัน เช่นเดียวกับ กณิตา และโอรส (2552) ศึกษาการปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในอุณหภูมิแตกต่างกัน 3 ระดับ พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดดีต่อรวงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ให้ผลตรงกับ Krishnan *et al.* (2011) รายงานว่าผลของอุณหภูมิที่สูงมากกว่า 35 องศาเซลเซียส ในระยะสืบพันธุ์ส่งผลให้เกิดความเป็นหมันเพิ่มขึ้น 40-60 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลต่อการติดเมล็ดลดลง โดยเฉพาะในระยะตั้งท้อง ส่งผลต่อการเป็นหมันของดอกย่อย หากข้าวได้รับอุณหภูมิสูงถึง 41 องศาเซลเซียส เพียง 2 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำสุดคือน้อยกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ (Satake and Yoshida, 1987)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กกลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง

สายพันธุ์	การติดเมล็ด (เปอร์เซ็นต์)		ความแตกต่าง (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย
	อุณหภูมิปกติ	อุณหภูมิสูง		
JHN	78.82 ^{3/a 4/} A	40.90 d B	48.11	^{1/c} 59.86
M 9962	76.64 a A	75.57 a A	1.40	a 76.11
M 7988	76.30 a A	67.33 b B	11.76	b 71.82
M 7766	59.57 c A	18.09 e B	69.63	d 38.83
ค่าเฉลี่ย	^{2/} A 72.84	B 50.47		

หมายเหตุ ^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{2/} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

ความมีชีวิตของละอองเกสร

จากการวิเคราะห์ความมีชีวิตของละอองเกสรในสภาพอุณหภูมิปกติและอุณหภูมิสูงพบว่า ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของละอองเกสรข้าวทั้ง 2 อุณหภูมิไม่แตกต่างกัน โดยมีความมีชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 94.54 และ 93.04 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า ค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของสายพันธุ์ JHN M9962 M7988 และ M7766 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยมีค่า 93.22 92.77 96.22 และ 92.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

หากพิจารณาแต่ละสายพันธุ์เปรียบเทียบกับ 2 สภาพอุณหภูมิ พบว่า สายพันธุ์ JHN M9962 และ M7766 ในสภาพอุณหภูมิปกติและในสภาพอุณหภูมิสูงมีความมีชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ -1.37 2.49 และ 3.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ M7988 ในสภาพอุณหภูมิปกติมีความมีชีวิตของละอองเกสรสูงกว่าในสภาพอุณหภูมิสูงซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ 1.97 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับอุณหภูมิ พบว่า ข้าวสายพันธุ์ JHN M9962 M7988 และ M7766 ในสภาพอุณหภูมิปกติ และข้าวสายพันธุ์ JHN และ M7988 ที่ปลูกภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยความมีชีวิตของละอองเกสรเท่ากับ 92.58 93.93 97.17 94.47 93.85 และ 95.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับข้าวสายพันธุ์ M9962 และ M7766 ที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง ซึ่งพบความมีชีวิตของละอองเกสรเท่ากับ 91.61 และ 91.43 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 5) สอดคล้องกับ Sato (1960) พบการเป็นหมันของข้าวเขตร้อนจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นในเดือนเมษายนอัตราการเป็นหมันสูงที่สุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ข้าวที่ออกรวงในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงต้นเดือนมกราคมอัตราการเป็นหมันจะต่ำกว่าช่วงอื่น ๆ อุณหภูมิสูงทำให้เกิดการผสมเกสรที่ผิดปกติ ซึ่งจะเกิดการแตกของอับเรณูที่ผิดปกติ และการเหี่ยวเฉาของเกสรตัวเมีย Jagadish *et al.* (2010) รายงานว่า อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ทำให้ความสมบูรณ์ของดอกย่อยลดลงในพันธุ์ข้าวที่ไม่ทนทาน และพันธุ์ข้าวที่ทนทานลดลง 71 และ 18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่ง Cao *et al.* (2008) พบว่าการพัฒนาของอับละอองเกสร และละอองเกสรของข้าวอินดิกาภายใต้อุณหภูมิที่มากกว่า 35 องศาเซลเซียส ในระยะการแบ่งตัวแบบไมโอซิสมีผลต่อการแตกของอับละอองเกสร และความมีชีวิตของละอองเกสร โดยความมีชีวิตของละอองเกสรภายใต้อุณหภูมิปกติเท่ากับ 77 เปอร์เซ็นต์ และในสภาพอุณหภูมิสูงเท่ากับ 63.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีอิทธิพลให้ผลผลิตลดลง 39.5 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าความมีชีวิตของละอองเกสรไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่ง กฤษญา (2544) รายงานว่า การเป็นหมันของเกสรตัวผู้มีหลายรูปแบบ แต่ที่พบมาก คือ 1) กลุ่มที่ไม่สร้างละอองเกสร หรือ สร้างละอองเรณูผิดปกติ 2) กลุ่มที่เกสรเพศผู้ไม่พัฒนา 3) กลุ่มที่ละอองเรณูปกติ และมีชีวิต แต่อับเรณูไม่สามารถเปิดได้ (functional sterility) ทำให้ละอองเรณูไม่สามารถทำหน้าที่ได้ สามารถพบได้ เช่น มะเขือเทศ ยาสูบ ซึ่งเมื่อละอองเกสรตกลงบนยอดเกสรเพศเมีย หลังจากนั้นละอองเกสรเพศผู้จะงอก pollen tube เพื่อส่งเซลล์เชื้อตัวผู้เข้าไปผสมกับไข่ (สุทัศน์, 2539) มีความสอดคล้องกับผลการทดลองของ เมวิกา (2556) ทดลองความมีชีวิตของ

ละอองเกสร และความมอกของละอองเกสรที่ได้คัดเลือกจากข้าวเจ้าหอมนิลพันธุ์กลายที่ทนทานต่ออุณหภูมิสูง รายงานว่า เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดของสายพันธุ์กลายอาจเกิดจากการงอกของท่อนำละอองเกสรมากกว่าความมีชีวิตของละอองเกสร โดยได้ศึกษาความมีชีวิตของละอองเกสรในสภาพอุณหภูมิปกติ และสภาพอุณหภูมิสูง พบว่า ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ความมอกของละอองเกสรที่อุณหภูมิสูงมีค่าเฉลี่ยความมอกต่ำกว่าภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ ซึ่งสายพันธุ์กลายเบอร์ 7825 มีความมอกของละอองเกสร และอัตราการติดเมล็ดสูงที่สุด เท่ากับ 82.98 และ 79.99 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามมีหลายปัจจัยที่ทำให้เกิดการติดเมล็ดที่ต่ำภายใต้สภาพอุณหภูมิสูง ซึ่งงานวิจัยนี้ไม่ได้ตรวจสอบความมอกของละอองเกสร ดังนั้น ควรศึกษาการงอกของละอองเกสร การแตกของอับละอองเกสร เพื่อศึกษาถึงผลจากอุณหภูมิสูงที่แน่ชัดต่อไป

ตารางที่ 5 ความมีชีวิตของละอองเกสรของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลาย ภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง

สายพันธุ์	ความมีชีวิตของละอองเกสร (เปอร์เซ็นต์)		ความแตกต่าง (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย
	อุณหภูมิปกติ	อุณหภูมิสูง		
JHN	92.58 ^{3/} ab ^{4/} A	93.85 ab A	-1.37	^{1/} 93.22
M 9962	93.93 ab A	91.61 b A	2.49	92.77
M 7988	97.17 a A	95.26 ab B	1.97	96.22
M 7766	94.47 ab A	91.43 b A	3.22	92.96
ค่าเฉลี่ย	^{2/} A 94.54	A 93.04		

หมายเหตุ ^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{2/} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

น้ำหนัก 100 เมล็ด

จากการวิเคราะห์น้ำหนัก 100 เมล็ด ในสภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูงพบว่า น้ำหนัก 100 เมล็ด ในสภาพอุณหภูมิปกติมีค่าสูงกว่าในสภาพอุณหภูมิสูงซึ่งมีน้ำหนัก 100 เมล็ด เท่ากับ 2.33 และ 2.14 กรัม ตามลำดับ IRRI (1975) รายงานว่าที่อุณหภูมิ 35/27 องศาเซลเซียส (กลางวัน/กลางคืน) ในข้าวบางพันธุ์มีน้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด ลดลง 5-10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่าเฉลี่ย น้ำหนัก 100 เมล็ด ของข้าวสายพันธุ์ M7766 มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 2.55 กรัม ซึ่งมีความแตกต่าง ทางสถิติกับข้าวสายพันธุ์ JHN M7988 และ M9962 มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเมล็ดข้าว 100 เมล็ด เท่ากับ 2.25 2.16 และ 1.97 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

หากพิจารณาความสัมพันธ์ของแต่ละสายพันธุ์กับสภาพอุณหภูมิปลูก พบว่า สภาพ อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติต่อน้ำหนัก 100 เมล็ด ของข้าวสายพันธุ์ JHN และ M7988 มีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ -6.88 และ 2.74 เปอร์เซ็นต์ แต่ภายใต้สภาพ อุณหภูมิสูงข้าวสายพันธุ์ M9962 และ M7766 มีความแตกต่างทางสถิติ ที่มีเปอร์เซ็นต์ความ แตกต่างเท่ากับ 9.22 และ 23.53 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ Cao *et al* (2008) ทดสอบข้าวอินดิกา 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Shuanggui 1 (ไม่ทนร้อน) และพันธุ์ Huanghuazhan (ทนร้อน) พบว่า ข้าวที่ ปลูกในอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีจำนวนช่อดอก อัตราการติดเมล็ด น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และ ผลผลิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ของสายพันธุ์กับสภาพอุณหภูมิ พบว่า M7766 ในสภาพอุณหภูมิ ปกติมีน้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ด สูงที่สุดเท่ากับ 2.89 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ JHN M9962 และ M7988 ที่มีน้ำหนัก 100 เมล็ด เท่ากับ 2.18 2.06 และ 2.19 กรัม ตามลำดับ และในสภาพอุณหภูมิสูง พบว่า สายพันธุ์ JHN M7988 และ M7766 มีน้ำหนัก 100 เมล็ดเท่ากับ 2.33 2.13 และ 2.21 กรัม ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ M9962 ซึ่งมีน้ำหนัก 100 เมล็ดน้อยที่สุดเท่ากับ 1.87 กรัม จากการทดลอง พบว่า ในสภาพ อุณหภูมิสูงน้ำหนักข้าว 100 เมล็ด ของ M9962 มีน้ำหนักต่ำที่สุด เมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่น แต่มี เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดสูงที่สุด ซึ่งอาจพิจารณาขนาดของเมล็ดเพิ่ม งานวิจัยของ Yoshida (1973) ปลูกข้าวพันธุ์ IR8 ที่อุณหภูมิ 4 ระดับ พบว่าที่อุณหภูมิสูงถึง 32 องศาเซลเซียส เริ่มแสดงผล กระทบต่อลักษณะต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบผลผลิต เช่น จำนวนเมล็ดต่อรวง ขนาดของเมล็ด

เป็นต้น กณิตา และ โอรส (2552) รายงานว่า อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงจากสภาวะที่เหมาะสมอาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาด้านการผลิตสารอาหารในเมล็ด เพราะถึงแม้ว่าน้ำหนัก 100 เมล็ด และอนุภาคแป้งไม่แสดงความแตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์ของรวง มีผลกระทบในเชิงลบกับอุณหภูมิปลูกที่ 40 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีความสอดคล้องกับ ชลลดา (2545) รายงานปฏิสัมพันธ์ระหว่างข้าวพันธุ์ กข 23 และสุพรรณบุรี 60 (ข้าวไม่ไวแสง) กับอุณหภูมิสูง 3 ระดับที่ 39-41, 42-44 และ 45-47 องศาเซลเซียส พบว่าการเจริญเติบโต และอุณหภูมิสูงทำให้ข้าวมีน้ำหนัก 100 เมล็ดเฉลี่ย แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว (2556) รายงานวิจัยการปลูกข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 ข้าวหอมชลสิทธิ์ ปทุมธานี 1 กข 33 และดอกพะยอม ที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงมากกว่า 40 องศาเซลเซียส พบว่า ทุกสายพันธุ์มีน้ำหนักเมล็ดลดลง โดยพันธุ์พิษณุโลก 2 หอมชลสิทธิ์ และ กข 33 มีน้ำหนัก 100 เมล็ด ลดลงมากที่สุด กณิตา และโอรส (2552) รายงานว่าอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงจากสภาวะที่เหมาะสมอาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาด้านการผลิตสารอาหารในเมล็ด เพราะถึงแม้ว่าน้ำหนัก 100 เมล็ด และอนุภาคแป้งไม่แสดงความแตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดดีต่อรวง มีผลกระทบในเชิงลบกับอุณหภูมิปลูกที่ 40 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 6 น้ำหนัก 100 เมล็ด ของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพ
อุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง

สายพันธุ์	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)		ความแตกต่าง (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย
	อุณหภูมิปกติ	อุณหภูมิสูง		
JHN	2.18 ^{3/} bc ^{4/} A	2.33 b A	-6.88	^{1/} b 2.25
M 9962	2.06 cd A	1.87 d B	9.22	c 1.97
M 7988	2.19 bc A	2.13 bc A	2.74	b 2.16
M 7766	2.89 a A	2.21 bc B	23.53	a 2.55
ค่าเฉลี่ย	^{2/} A 2.33	B 2.14		

หมายเหตุ ^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{2/} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

น้ำหนักเมล็ดติดต่อดัน

จากการวิเคราะห์น้ำหนักเมล็ดติดต่อดัน พบว่า ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเมล็ดติดต่อดันในสภาพอุณหภูมิปกติมีความแตกต่างจากสภาพอุณหภูมิสูง โดยในสภาพอุณหภูมิปกติมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักเมล็ดติดต่อดันมากกว่าอุณหภูมิสูงเท่ากับ 9.24 และ 5.48 กรัม ตามลำดับ และพบว่า ค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์ M7988 มีน้ำหนักเมล็ดติดต่อดันมากกว่า JHN M9962 และ M7766 ดังนี้ 10.49 7.37 7.08 และ 4.50 กรัม ตามลำดับ เมื่อพิจารณาแต่ละสายพันธุ์เปรียบเทียบกับสภาพอุณหภูมิทั้ง 2 สภาพ พบว่า ในสภาพอุณหภูมิปกติสายพันธุ์ JHN และ M7988 มีความแตกต่างทางสถิติกับสภาพอุณหภูมิสูง โดยมีความแตกต่างเท่ากับ 49.95 และ 33.49 เปอร์เซ็นต์ ส่วน M9962 และ

M7766 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติของสภาพการปลูก มีความแตกต่างเท่ากับ 42.03 และ 38.31 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับอุณหภูมิ พบว่า M7988 ในสภาพอุณหภูมิปกติมีค่าน้ำหนักเมล็ดดีต่อต้นสูงที่สุดเท่ากับ 12.6 กรัม แตกต่างทางสถิติกับ JHN M9962 และ M7766 มีน้ำหนักเมล็ดดีต่อต้นเท่ากับ 9.83 8.97 และ 8.38 กรัม ตามลำดับ ส่วนในสภาพอุณหภูมิสูง พบว่า สายพันธุ์ M7988 มีน้ำหนักเมล็ดดีต่อต้นสูงที่สุด โดยมีน้ำหนักเมล็ดดีต่อต้นเท่ากับ 8.38 กรัม ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ JHN M9962 และ M7766 ที่มีน้ำหนักเมล็ดดีต่อต้นเท่ากับ 4.92 5.2 และ 3.43 กรัม ตามลำดับ ที่ภายใต้อุณหภูมิสูงข้าวสายพันธุ์กลาย M9962 มีน้ำหนัก 100 เมล็ด ต่ำที่สุด แต่เป็นพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์กลาย M7766 ที่มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดน้อยที่สุด และพบว่ามีน้ำหนักเมล็ดดีต่อต้นไม่ต่างกัน เช่นเดียวกับข้าวสายพันธุ์กลาย M7988 ที่มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดสูงกว่า M7766 แต่น้อยกว่า M9962 แต่มีองค์ประกอบผลผลิตสูงกว่า M9962 เนื่องจากอาจมีการชดเชยกันระหว่าง sink size กล่าวคือ น้ำหนัก 100 เมล็ด ของข้าวสายพันธุ์กลาย M9962 อาจถูกชดเชยจากจำนวนเมล็ดดีต่อรวง เนื่องจากจำนวนกอ ความยาวรวง จำนวนรวง น้อยกว่า ข้าวสายพันธุ์กลาย M7988 และ M7766 แต่มีน้ำหนักรวงเฉลี่ยสูงกว่าข้าวสายพันธุ์กลาย M7766 ซึ่งจำนวนเมล็ดดีต่อรวงนั้นเป็นปัจจัยที่ใช้ในการกำหนดผลผลิตของพืช (Krishnan *et al.*, 2011) เพราะจำนวนเมล็ดต่อพื้นที่นั้นถือเป็นตัวกำหนดผลผลิตของพืชในกลุ่มธัญพืชที่ปลูกในสภาพแวดล้อมที่ปราศจากความเครียด (Fischer, 1983; Kropff *et al.*, 1994) และการเพิ่ม sink size ของข้าวอาจทำได้โดยการเพิ่มจำนวนช่อดอก หรือขนาดช่อดอก หรือทั้งสองอย่าง เพราะองค์ประกอบผลผลิตทั้งสองนี้มีกลไกที่สามารถชดเชยกันได้ (Ying *et al.*, 1998)

ตารางที่ 7 น้ำหนักเมล็ดดีต่อต้นของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพ
อุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง

สายพันธุ์	น้ำหนักเมล็ดดีต่อต้น (กรัม)		ความแตกต่าง (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย
	อุณหภูมิปกติ	อุณหภูมิสูง		
JHN	9.83 ^{3/} b ^{4/} A	4.92 c B	49.95	^{1/} b 7.37
M 9962	8.97 b A	5.20 c A	42.03	b 7.08
M 7988	12.60 a A	8.38 b B	33.49	a 10.49
M 7766	5.56 c A	3.43 c A	38.31	c 4.50
ค่าเฉลี่ย	^{2/} A 9.24	B 5.48		

หมายเหตุ ^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{2/} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

น้ำหนักรวง

การวิเคราะห์น้ำหนักรวงในสภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยในสภาพอุณหภูมิปกติมีค่าเฉลี่ยมากกว่าในสภาพอุณหภูมิสูง เท่ากับ 1.63 และ 1.08 กรัม ตามลำดับ และพบว่า ค่าเฉลี่ยสายพันธุ์ M7988 มีน้ำหนักรวง เท่ากับ 1.61 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับ M9962 และ JHN มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักรวงเท่ากับ 1.48 และ 1.46 กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และ M7766 มีค่าเฉลี่ยสายพันธุ์เท่ากับ 0.86 กรัม หากพิจารณาแต่ละสายพันธุ์เปรียบเทียบกับสภาพการปลูกทั้ง 2 อุณหภูมิ พบว่า JHN M9962 M7899 และ

M7766 มีความแตกต่างกัน ซึ่งการปลูกในสภาพอุณหภูมิปกติมีค่ามากกว่าในสภาพอุณหภูมิสูง โดยมีความแตกต่างเท่ากับ 43.85 14.38 25.00 และ 57.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสภาพการปลูก พบว่า ในสภาพอุณหภูมิปกติ สายพันธุ์ JHN และ M7988 มีน้ำหนักทรงสูงสุดที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ มีน้ำหนักทรงเท่ากับ 1.87 และ 1.84 กรัม ตามลำดับ แต่แตกต่างกับ M9962 และ M7766 โดยมีน้ำหนักทรงเท่ากับ 1.60 และ 1.20 กรัม ตามลำดับ ส่วนในสภาพอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ M7766 มีน้ำหนักทรงน้อยที่สุด เท่ากับ 0.51 กรัม มีความแตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ JHN M9962 และ M7899 เท่ากับ 1.05 1.37 และ 1.38 กรัม ตามลำดับ โดย M9962 และ M7899 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เป็นผลที่สอดคล้องกับการทดลองของ กฤษณา (2555) ที่ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของข้าวในกลุ่มสายพันธุ์ข้าวไวแสง และกลุ่มสายพันธุ์ข้าวไม่ไวแสงภายใต้อุณหภูมิสูงมากกว่า 40 องศาเซลเซียส พบว่า สายพันธุ์ข้าวทั้ง 2 กลุ่มเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะมีน้ำหนักแห้งทรงลดลง เนื่องจากข้าวในระยะตั้งท้องอ่อนแอต่ออุณหภูมิสูง มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบสูง ซึ่งข้าวที่ได้รับอุณหภูมิสูงที่ระดับ 45-47 องศาเซลเซียส ได้รับผลกระทบมากที่สุด พบว่า เปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบสูง มีจำนวนเมล็ดต่อรวง และเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบลดลง (ชลลดา, 2545) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Osada *et al.* (1973) ศึกษาการเกิดเมล็ดลีบในหลายจังหวัดของประเทศไทย พบว่า ข้าว 12 พันธุ์ และสายพันธุ์ถูกปลูก 3 ครั้ง เพื่อให้ออกดอกภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงทำยของฤดูปลูก ในช่วงเดือนเมษายน และพฤษภาคม ซึ่งอุณหภูมิตลอดทั้งวันเพิ่มขึ้นสูงกว่า 30 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การเป็นหมันจะอยู่ในช่วง 40-10 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 8 น้ำหนักรวงของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง

สายพันธุ์	น้ำหนักรวง (กรัม)		ความแตกต่าง (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย
	อุณหภูมิปกติ	อุณหภูมิสูง		
JHN	1.87 ^{3/} a ^{4/} A	1.05 e B	43.85	^{1/} b 1.46
M 9962	1.60 b A	1.37 c B	14.38	b 1.48
M 7988	1.84 a A	1.38 c B	25.00	a 1.61
M 7766	1.20 d A	0.51 f B	57.50	c 0.86
ค่าเฉลี่ย	^{2/} A 1.63	B 1.08		

หมายเหตุ ^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{2/} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

ความยาวรวง

จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยความยาวรวงในสภาพอุณหภูมิปกติ และสภาพอุณหภูมิสูง พบว่า ค่าเฉลี่ยของความยาวรวงในสภาพอุณหภูมิปกติมีความยาวรวงแตกต่างทางสถิติกับการปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.38 และ 20.76 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ JHN มีความแตกต่างจาก M7988 M7766 และ M9962 มีค่าเท่ากับ 23.03 21.78 20.88 และ 18.57 เซนติเมตร ตามลำดับ หากพิจารณาเปรียบเทียบแต่ละสายพันธุ์กับสภาพการปลูกทั้ง 2 สภาพ พบว่า M9962 M7988 และ M7766 มีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ 7.62 1.77 และ 12.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความ

แตกต่างกัน แต่ความยาวรวงของสายพันธุ์ JHN ในสภาพอุณหภูมิปกติมีความแตกต่างกับสภาพอุณหภูมิสูง ซึ่งในสภาพอุณหภูมิปกติมีความยาวรวงน้อยกว่าการปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง โดยมีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ -10.22 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสภาพการปลูกในอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูงพบว่า JHN ที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงมีความยาวรวงเท่ากับ 24.15 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับ JHN M7988 และ 7766 โดยมีความยาวรวงเท่ากับ 21.91 21.98 และ 22.23 เซนติเมตร ตามลำดับ และในสภาพอุณหภูมิสูง พบว่า สายพันธุ์ JHN มีความยาวรวงสูงที่สุดเท่ากับ 24.15 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ M9962 M7988 และ M7766 โดยมีความยาวรวงเท่ากับ 17.83 21.59 และ 19.45 เซนติเมตร ตามลำดับ Vergara and Lillis (1968) กล่าวว่า อุณหภูมิสูงจะเร่งการพัฒนา และการยืดยาวของรวงให้เร็วขึ้นมากกว่าจะไปกระตุ้นให้เกิดการกำเนิดช่อดอก วาสนา (2540) ได้อ้างถึงผลการศึกษานักวิจัยหลายคน สรุปได้ว่า อุณหภูมิสูงช่วยกระตุ้นการพัฒนาการสร้างรวงโดยอุณหภูมิปกติอยู่ที่ระดับ 18 องศาเซลเซียส ซึ่งที่อุณหภูมิสูง 35-37 องศาเซลเซียส จะช่วยเร่งในการพัฒนาในช่วงทำของรวง แต่จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิสูงขึ้นส่งผลให้ค่าเฉลี่ยความยาวรวงลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Takeoka *et al.* (1993) พบว่า ข้าวที่ได้รับอุณหภูมิสูงเกินกว่า 37 องศาเซลเซียส จะทำให้รวงอ่อนที่กำลังเจริญเติบโตถูกยับยั้ง และมีโอกาสที่ดอกย่อยเป็นหมันมากขึ้น ดังนั้นจึงควรเก็บข้อมูลจำนวนรวงแห้ง จากผลการศึกษานักวิทยาศาสตร์ข้าว (2556) พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตกับความยาวรวงภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงที่ 42 องศาเซลเซียส มีความสัมพันธ์ในทางลบและไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีอิทธิพลทางอ้อมแบบบวกผ่านทางจำนวนรวงแห้ง

ตารางที่ 9 ความยาวรวงของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพ
อุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง

สายพันธุ์	ความยาวรวง (เซนติเมตร)		ความแตกต่าง (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย
	อุณหภูมิปกติ	อุณหภูมิสูง		
JHN	21.91 ^{3/} b ^{4/} B	24.15 a A	-10.22	^{1/} a 23.03
M 9962	19.30 c A	17.83 d A	7.62	d 18.57
M 7988	21.98 b A	21.59 b A	1.77	b 21.78
M 7766	22.23 b A	19.45 c A	12.51	c 20.88
ค่าเฉลี่ย	^{2/} A 21.38	B 20.76		

หมายเหตุ ^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{2/} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

จำนวนรวงต่อต้น

จากการวิเคราะห์จำนวนรวงในสภาพอุณหภูมิปกติ และสภาพอุณหภูมิสูง พบว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวนรวงในสภาพอุณหภูมิสูงมีความแตกต่างจากในสภาพอุณหภูมิปกติ เท่ากับ 6.30 และ 7.33 รวง ซึ่งค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์ M7766 มีจำนวนรวงต่อต้นที่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ M7988 มีจำนวนรวงเท่ากับ 8.32 และ 7.23 รวง ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับ M9962 และ JHN มีค่าเฉลี่ยจำนวนรวงเท่ากับ 5.87 และ 5.84 รวง เมื่อพิจารณาแต่ละสายพันธุ์กับสภาพอุณหภูมิทั้ง 2 สภาพ พบว่า JHN และ M7988 มีความแตกต่างเท่ากับ 12.96 และ 0.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ M9962 มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่มี

เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเท่ากับ 36.78 เปอร์เซ็นต์ โดยในสภาพอุณหภูมิปกติมีจำนวนรวงต่อต้นมากกว่าสภาพอุณหภูมิสูง และ M7766 พบว่า การปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงมีจำนวนรวงต่อต้นสูงกว่าในสภาพอุณหภูมิปกติที่แตกต่างทางสถิติ มีความแตกต่างเท่ากับ -159.18 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10)

เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์เปรียบเทียบกับสภาพอุณหภูมิการปลูก พบว่าในสภาพอุณหภูมิปกติสายพันธุ์ M7766 มีจำนวนรวงน้อยที่สุดเท่ากับ 12.00 รวง ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับ JHN M9962 และ M7988 ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติเท่ากับ 6.25 7.07 และ 7.23 รวง ตามลำดับ ส่วนในสภาพอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ M7766 มีจำนวนรวงสูงที่สุดเท่ากับ 12.00 รวง ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ JHN M9962 และ M7988 โดยความยาวรวงเท่ากับ 5.44 4.47 และ 7.23 รวง ตามลำดับ ซึ่งสายพันธุ์ M9962 มีจำนวนรวงน้อยที่สุด ตรงกับงานวิจัยของชลลดา (2545) พบว่าผลของอุณหภูมิสูงมีผลต่อข้าวพันธุ์ กข 33 และสุพรรณบุรี ในระยะตั้งท้องมีจำนวนรวงต่อกอแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ข้าวกับอุณหภูมิทำให้จำนวนรวงต่อกอแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ Yoshida (1973) พบว่าอุณหภูมิจะกระตุ้นให้เกิดการแตกของใบ การแตกกอ และเปอร์เซ็นต์หน่อที่ให้รวงเพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างกันตามสายพันธุ์ และระยะการเจริญเติบโตที่ได้รับอุณหภูมิสูง ถึงแม้ผลการทดลอง พบว่าจำนวนรวงจะเพิ่มขึ้นแต่การพัฒนาไปเป็นรวงที่สมบูรณ์ในสภาพอุณหภูมิสูงลดลง Takeoka *et al.* (1993) รายงานว่า ข้าวที่ได้รับอุณหภูมิสูงเกินกว่า 37 องศาเซลเซียส จะทำให้รวงอ่อนที่กำลังเจริญเติบโตถูกยับยั้ง

ตารางที่ 10 จำนวนรวงต่อต้นของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพ
อุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง

สายพันธุ์	จำนวนรวงต่อต้น (รวง)		ความแตกต่าง (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย
	อุณหภูมิปกติ	อุณหภูมิสูง		
JHN	6.25 ^{3/} bc ^{4/} A	5.44 bc A	12.96	^{1/} c 5.84
M 9962	7.07 b A	4.47 c B	36.78	bc 5.87
M 7988	7.23 b A	7.23 b A	0.00	ab 7.23
M 7766	4.63 c B	12.00 a A	-159.18	a 8.32
ค่าเฉลี่ย	^{2/} B 6.30	A 7.33		

หมายเหตุ ^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{2/} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

จำนวนกอต่อต้น

จากการวิเคราะห์จำนวนกอต่อต้น พบว่า ค่าเฉลี่ยจำนวนกอต่อต้นในสภาพอุณหภูมิปกติ มีความแตกต่างทางสถิติกับการปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนกอต่อต้นเท่ากับ 9.77 และ 7.89 กอ ตามลำดับ และพบว่า ค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์ M996 และ M7766 มีความแตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ M7988 และ JHN เท่ากับ 10.15 9.14 8.39 และ 7.38 กอ หากพิจารณาแต่ละสายพันธุ์เปรียบเทียบกับสภาพการปลูก พบว่า JHN M7988 และ M7766 มีความแตกต่างเท่ากับ -4.58 -3.89 และ -12.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติทั้ง

การปลูกในสภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง แต่สายพันธุ์ M9962 มีความแตกต่างกันทางสถิติของสภาพการปลูก โดยมีความแตกต่างเท่ากับ 62.56 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 11)

เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์กับสภาพการปลูก พบว่าในสภาพอุณหภูมิปกติ สายพันธุ์ M9962 มีจำนวนกอดต่อต้นสูงที่สุดเท่ากับ 14.77 กอ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับ JHN M7988 และ M7766 มีจำนวนกอดต่อต้นเท่ากับ 7.21 8.23 และ 8.87 กอ ซึ่งสายพันธุ์ JHN มีจำนวนกอดต่ำที่สุด ส่วนในสภาพอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ M9962 มีจำนวนกอดต่ำที่สุดเท่ากับ 5.53 กอ มีความแตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ JHN M7988 และ M7766 ให้ผลเช่นเดียวกับการทดลองของ ชลลดา (2545) ปลูกข้าวที่ระดับอุณหภูมิสูง 3 ระดับ 39-41 42-44 และ 45-47 องศาเซลเซียส พบว่าที่ระดับอุณหภูมิสูงขึ้นทำให้ข้าวมีจำนวนกอดแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สอดคล้องกับ Muruta (1976) พบว่า ข้าวบางสายพันธุ์เมื่อได้รับอุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส ข้าวจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ หากอุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้ความสามารถในการดึงดูดเอาซิลิกา และโพแทสเซียมจากดินขึ้นมาลดลง ส่งผลต่อการแตกกอ รวมทั้งจำนวนเมล็ดลีบสูงขึ้น เป็นผลให้ผลผลิตลดลง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าและการแตกกอของข้าวอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส (ทวี, 2541) จำนวนกอดต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบภายในโรงเรือนร้อนกับ อุณหภูมิปกติ ตามสมมุติฐานไม่น่าแตกต่างกัน แต่จากผลการทดลอง มี M9962 สายพันธุ์เดียวเท่านั้นที่แตกต่างกัน ผลที่ไม่น่าแตกต่างกัน เนื่องจากการแตกกอเกิดในระยะ vegetative stages แต่ในการทดลองนี้ข้าวเข้าสู่โรงเรือนร้อนในระยะ reproductive ดังนั้น การแตกกอในการทดลองนี้อาจไม่เกี่ยวกับอุณหภูมิ ซึ่งระยะแตกกอของข้าวเริ่มแตกกอหลังจากปลูกประมาณ 20 วัน ขึ้นอยู่กับพันธุ์ (วัชรินทร์, 2554)

ตารางที่ 11 จำนวนกอต่อต้นของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง

สายพันธุ์	จำนวนกอต่อต้น (กอต)		ความแตกต่าง (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย
	อุณหภูมิปกติ	อุณหภูมิสูง		
JHN	7.21 ^{3/} cd ^{4/} A	7.54 cd A	-4.58	^{1/} c 7.38
M 9962	14.77 a A	5.53 d B	62.56	a 10.15
M 7988	8.23 bc A	8.55 bc A	-3.89	bc 8.39
M 7766	8.87 bc A	9.94 b A	-12.06	ab 9.41
ค่าเฉลี่ย	^{2/} A 9.77	B 7.89		

หมายเหตุ ^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{2/} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

ความสูงต้น

จากการวิเคราะห์ความสูงต้นในสภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูงพบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งในสภาพอุณหภูมิสูงมีค่าเฉลี่ยความสูงต้นมากกว่าในสภาพอุณหภูมิปกติเท่ากับ 81.18 และ 76.77 เซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว (2556) พบว่า อุณหภูมิมีอิทธิพลต่อความสูงต้นอย่างมีนัยสำคัญ และภายใต้สภาพอุณหภูมิสูงมีแนวโน้มให้ข้าวมีความสูงเพิ่มขึ้น หากพิจารณาค่าเฉลี่ยของพันธุ์ JHN มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ M7988 M7766 และ M9962 มีค่าเฉลี่ยพันธุ์เท่ากับ 90.99 86.62 76.93 และ 61.35 เซนติเมตรตามลำดับ หากพิจารณาแยกสายพันธุ์เปรียบเทียบกับสภาพการปลูก พบว่า M9962 M7988 และ

M7766 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ค่าเฉลี่ยของพันธุ์ JHN มีความแตกต่างทางสถิติ โดยในสภาพอุณหภูมิสูงมีค่าเฉลี่ยความสูงของต้นมากกว่าในสภาพอุณหภูมิปกติ โดยมีความแตกต่างเท่ากับ -5.08 8.17 -6.33 และ -3.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

เมื่อวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และสภาพการปลูก พบว่า ในสภาพอุณหภูมิปกติ พันธุ์ JHN มีความสูงของต้นสูงที่สุดเท่ากับ 89.44 เซนติเมตร ที่มีความแตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ M9962 M7988 และ M7766 มีความสูงต้นเท่ากับ 59.83 83.22 และ 74.57 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่ในสภาพอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ JHN และสายพันธุ์ M7988 พบว่า มีความสูงต้นสูงที่สุดซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยความสูงเท่ากับ 92.53 และ 90.2 เซนติเมตร แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับ M9962 และ M7766 ที่มีความสูงเท่ากับ 62.87 และ 79.29 เซนติเมตร ตามลำดับ Osada *et al.* (1973) รายงานว่า ความสูงของข้าวเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงที่อยู่ระหว่าง 30–35 องศาเซลเซียส แต่เนื่องจากการทดลองนี้ นำข้าวเข้าสู่โรงเรือนร้อนในระยะตั้งท้องจึงอาจมีความสูงต้นในแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันมากนัก ซึ่งระยะตั้งท้อง คือ ระยะหลังการเจริญเติบโตทางลำต้น เช่น การแตกกอสูงสุด การยืดขยายของลำต้นสมบูรณ์ เป็นต้น หลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะตั้งท้อง และเริ่มสร้างดอก (Krishnan, 2011) ความสูงต้นมีเหตุผลเช่นเดียวกับจำนวนกอ โดยปกติแล้วความสูงจะหยุดเมื่อออกรวง ดังนั้น การทดลองนี้ ความสูงของแต่ละสายพันธุ์ในโรงเรือนร้อนที่ควบคุมอุณหภูมิกับภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติไม่น่าแตกต่างกัน ซึ่งจากตารางมี JHN พันธุ์เดียวที่แตกต่าง ดังนั้นความสูงในการทดลองนี้อาจเกิดจากพันธุ์มากกว่าสิ่งแวดล้อม

ตารางที่ 12 ความสูงต้นของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายภายใต้สภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง

สายพันธุ์	ความสูงต้น (เซนติเมตร)		ความแตกต่าง (เปอร์เซ็นต์)	ค่าเฉลี่ย
	อุณหภูมิปกติ	อุณหภูมิสูง		
JHN	89.44 ^{3/a} ^{4/B}	92.53 a A	-3.45	^{1/a} 90.99
M 9962	59.83 d A	62.87 d A	-5.08	d 61.35
M 7988	83.22 b A	90.02 a A	8.17	b 86.62
M 7766	74.57 c A	79.29 bc A	-6.33	c 76.93
ค่าเฉลี่ย	^{2/B} 76.77	A 81.18		

หมายเหตุ ^{1/} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{2/} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่นำด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี LSD

การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ระหว่างเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด และฟีนอลไทป์ของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลาย

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดในสภาพอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูงกับฟีนอลไทป์ของข้าวเจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลาย พบว่า สภาพแวดล้อมมีผลต่อฟีนอลไทป์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 13) เมื่อพิจารณาฟีนอลไทป์ของข้าวเจ้าหอมนิล และข้าวหอมนิลสายพันธุ์กลายที่ปลูกในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน พบว่า ข้าวหอมนิล และข้าวหอมนิลสายพันธุ์กลายที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิปกติมีน้ำหนักเมล็ดติดต่อดัน น้ำหนักรวง และจำนวนรวงที่มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกับเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์

สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.73^* 0.89^{**} และ 0.69^{**} ตามลำดับ ในข้าวแต่ละสายพันธุ์จะได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิสูงต่อเปอร์เซ็นต์การผสมติดแตกต่างกัน และมีสัมประสิทธิ์ในทิศทางตรงข้ามกับน้ำหนัก 100 เมล็ด ที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ -0.95^{**} ทั้งนี้ น้ำหนัก 100 เมล็ด ขึ้นอยู่กับขนาดของเมล็ดข้าว และไม่มีความสัมพันธ์กับความมีชีวิตของละอองเกสร ความสูงต้น จำนวนกอ และความยาวรวง สำหรับการปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง พบว่า น้ำหนักเมล็ดต่อต้น และน้ำหนักรวงมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.66^* และ 0.95^* ตามลำดับ แต่มีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับน้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนกอต่อต้น และจำนวนรวงที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ -0.53^* -0.74^{**} และ -0.74^{**} ตามลำดับ ส่วนความมีชีวิตของละอองเกสร ความสูงต้น และความยาวรวง ไม่มีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด สอดคล้องกับผลการทดลองของ นิทัศน์ (2555) พบว่า อัตราการติดเมล็ดต่อรวงไม่มีความสัมพันธ์ทางสถิติต่อความมีชีวิตของละอองเกสร ควรศึกษาการออกของท่อนำละอองเรณู ทั้งนี้ น้ำหนัก 100 เมล็ด ขึ้นอยู่กับขนาดของเมล็ดข้าว ส่วนความมีชีวิตของละอองเกสร ความสูงต้น จำนวนกอต่อต้น และความยาวรวง ไม่มีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด ให้ผลเช่นเดียวกับ Matsushima *et al.* (1982) รายงานว่า ข้าวที่ได้รับอุณหภูมิสูง 40-42.1 องศาเซลเซียส ที่ระยะออกรวงของข้าว 3 สายพันธุ์ มีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์เมล็ดที่ไม่ได้รับการผสมกับเปอร์เซ็นต์เมล็ดแก่จะมีความสัมพันธ์ในทางลบ หรือ ทิศทางตรงกันข้าม คือ หากเปอร์เซ็นต์ที่ไม่ได้รับการผสมสูงขึ้น เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีลดลง Yoshida (1983) ศึกษาลักษณะที่แตกต่างกันขององค์ประกอบผลผลิต เช่น จำนวนรวงต่อต้น จำนวนรวงต่อพื้นที่ จำนวนดอกย่อยต่อรวง เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด จำนวนกอ เป็นต้น สิ่งเหล่านี้ คือ ตัวกำหนดผลผลิต ซึ่งองค์ประกอบผลผลิตนั้นมีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับพันธุ์สถานที่ปลูก ฤดูปลูก ช่วงเวลาที่เหมาะสมการพัฒนาของพืช และลักษณะดิน (Baker *et al.*, 1992)

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ระหว่างเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด และฟีนไทป์
บางประการ

ฟีนไทป์	เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดใน	เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดใน
	สภาพอุณหภูมิปกติ (นอกโรงเรือนร้อน)	สภาพอุณหภูมิสูง (ในโรงเรือนร้อน)
ความมีชีวิตของละอองเกสร	-0.11 ns	0.14 ns
น้ำหนัก 100 เมล็ด	-0.95 **	-0.53 *
น้ำหนักเมล็ดติดต่อดัน	0.73 **	0.66 *
น้ำหนักรวง	0.89 **	0.95 **
ความยาวรวง	-0.28 ns	-0.23 ns
จำนวนรวงต่อดัน	0.69 *	-0.74 **
จำนวนกอกต่อดัน	0.17 ns	-0.74 **
ความสูง	0.19 ns	-0.31 ns

หมายเหตุ ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาการแสดงออกของยีน *Hsfs* (*Heat shock transcription factors*) ภายใต้อุณหภูมิสูง

จากการศึกษาการแสดงออกของยีน *Hsfs* ในกลุ่ม A เมื่ออยู่ในสภาวะเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสูงในระยะ R₂ ทั้งหมด 7 ยีน คือ *OsHsfA2a* *OsHsfA2b* *OsHsfA2d* *OsHsfA2e* *OsHsfA4d* *OsHsfA7* และ *OsHsfA9* ในข้าวสายพันธุ์ไวต์ไทป์ (JHN) สายพันธุ์กลายที่ให้ลักษณะทนร้อน (M9962) ทนร้อนปานกลาง (M7988) และ สายพันธุ์อ่อนแอต่อความร้อน (M7766) ทั้งในส่วนของดอก และใบ พบว่า มีรูปแบบการแสดงออกที่เปลี่ยนไปจากสภาวะปกติ เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในส่วนเนื้อเยื่อดอก พบว่า ยีน *OsHsfA2a* มีรูปแบบการแสดงออกที่ลดลงทุกสายพันธุ์ จึงแสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิสูงมีผลกระทบต่อการแสดงออกของยีนดังกล่าว แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า สายพันธุ์กลายทนร้อน M9962 มีสัดส่วนการลดลงน้อยที่สุด (-3.56

เท่า) ส่วนสายพันธุ์อ่อนแอ M7766 มีสัดส่วนการลดลงมากที่สุด (-9.06) (ตารางที่ 14 และภาพที่ 4) แต่เมื่อพิจารณาในเดียวกันนี้ ในส่วนของใบ พบว่า ในสายพันธุ์ JHN มีรูปแบบการแสดงออกที่ลดลง (-3.29 เท่า) ส่วนสายพันธุ์กลายอื่น ๆ กลับมีรูปแบบการแสดงออกที่ต่างออกไป (ตารางที่ 15 และภาพที่ 5) ซึ่งเป็นที่น่าสนใจว่า สายพันธุ์กลายทร้อน M9962 มีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นสูงถึง 5.17 เท่า (ตารางที่ 15 และภาพที่ 5) ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่า *OsHsfA2a* นี้มีการแสดงออกในสภาวะปกติเกือบทุกเนื้อเยื่อของข้าว ได้แก่ ราก ลำต้น ใบ และดอก โดยมีการแสดงออกในใบที่ต่ำกว่าเนื้อเยื่อชนิดอื่น (Ai-Ling *et al.*, 2010) และถูกชักนำให้มีการแสดงออกที่สูงขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่ออยู่ในสภาวะเครียดจากอุณหภูมิสูง และค่อย ๆ ลดลงภายใน 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นการตอบสนองเมื่อข้าวอยู่ในระยะต้นอ่อน 3 สัปดาห์ (Ai-Ling *et al.*, 2010) โดยที่ *OsHsfA2a* นี้จัดเป็นโมเลกุลสื่อสัญญาณขั้นต้นในการตอบสนองต่ออุณหภูมิสูง ดังนั้น จากผลการทดลอง จึงเป็นไปได้ว่า กลไกการทร้อนสายพันธุ์กลาย M9962 ในระยะสืบพันธุ์นี้เกี่ยวข้องกับการทำงานของยีน *OsHsfA2a* ที่ถูกชักนำให้มีการแสดงออกในส่วนของใบ แล้วสะสมเพื่อกระตุ้นการแสดงออกของยีนอื่น ๆ ในวิถีการทร้อน เช่นเดียวกับในมะเขือเทศที่มีการสะสม mRNA เมื่อต้องอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลายาวนาน (Port *et al.*, 2004; Scharf *et al.*, 1998) จากการแสดงออกของยีน *HsfA2b* ในส่วนของดอก พบว่า เมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูงมีรูปแบบการแสดงออกของยีนที่ต่างไปจากสภาวะควบคุมเล็กน้อย ยกเว้นสายพันธุ์กลายทร้อน M9962 ที่มีรูปแบบการแสดงออกที่ลดลง -2.39 เท่า (ตารางที่ 14 และภาพที่ 4) เช่นเดียวกับการแสดงออกที่ใบที่มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยไม่ถึง 2 เท่า ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการตอบสนองของยีน *HsfA2b* ในสภาวะเครียดเนื่องจากความร้อนในระยะสืบพันธุ์นี้ต่ำ ซึ่งเป็นไปได้ว่ายีนดังกล่าวได้ถูกกระตุ้นให้มีการแสดงออกในขั้นต้นของกระบวนการส่งสัญญาณความเครียดแล้ว สนับสนุนสมมติฐานนี้โดย Ai-Ling *et al.* (2010) ได้แสดงให้เห็นว่า ยีน *OsHsfA2b* นี้มีการถูกชักนำให้มีการแสดงออกเมื่อได้รับความร้อนภายใน 45 นาที และลดลงหลังจากผ่านไป 1.5 ชั่วโมง ดังนั้นเมื่อเวลาผ่านไป *OsHsfA2b* ได้มีการกระตุ้นการสะสมของโปรตีนกลุ่มฮีตช็อกที่เพียงพอ จึงทำให้เกิดกลไกยับยั้งการแสดงออกแบบย้อนกลับ (feedback control) ยับยั้งระดับการถอดรหัสของยีน *HsfA2b* ลดลงจนใกล้เคียงกับสภาวะควบคุม (Baniwal *et al.*, 2004) โดยที่สายพันธุ์ทร้อนนั้น อาจจะมีรูปแบบการตอบสนองที่รวดเร็ว มีการสะสมโปรตีนกลุ่มฮีตช็อก รวมทั้งโปรตีนอื่น ๆ ที่อยู่ในวิถีการตอบสนองต่อความเครียดในปริมาณมากกว่าสายพันธุ์อื่น จึงเกิดกลไกย้อนกลับยับยั้งการแสดงออกจนมีระดับการแสดงออกที่ต่ำกว่าสายพันธุ์อื่นนั่นเอง เพื่อรักษาสมดุลของโปรตีนรวมทั้งเอนไซม์ต่าง ๆ ในวิถีทนเค็ม

จากการตรวจสอบการแสดงออกของ *HsfA2d* พบว่า มีรูปแบบการแสดงออกที่ลดลง ทั้งในส่วนเนื้อเยื่อดอก และใบ ยกเว้นสายพันธุ์กลายอ่อนแอ M7766 ซึ่งมีรูปแบบการแสดงออกที่เพิ่มขึ้น 1.65 เท่า และ 1.4 เท่า ตามลำดับ (ตารางที่ 14 และ ภาพที่ 4) จึงแสดงให้เห็นว่ากลไกการตอบสนองเพื่อให้ข้าวระยะตั้งท้องนั้นทนต่อสภาวะความร้อน อาจเนื่องมาจากข้าวที่มีความสามารถในการทนร้อนมีการแสดงออกของ *HsfA2d* ได้รวดเร็ว สามารถสะสมโปรตีนฮีตช็อค รวมทั้งเอนไซม์ต่าง ๆ ได้เพียงพอ และรวดเร็วกว่าข้าวสายพันธุ์อ่อนแอ จึงเกิดกลไกยับยั้งแบบย้อนกลับ เช่นเดียวกับการทำงานของกลุ่มยีน *Hsfs* ทั่วไป (Baniwal *et al.*, 2004; Ai-Ling *et al.*, 2010)

จากการแสดงออกของ *HsfA2e* พบ การเปลี่ยนแปลงในส่วนเนื้อเยื่อใบน้อยมาก ไม่ถึง 2 เท่า แต่พบการเปลี่ยนแปลงในส่วนเนื้อเยื่อดอกของสายพันธุ์กลายทนร้อน M9962 ที่ลดลงสูงสุดคือ -2.5 เท่า (ตารางที่ 14 และภาพที่ 4) จึงแสดงให้เห็นว่า สายพันธุ์ทนร้อนนี้มีรูปแบบการแสดงออกของยีน *HsfA2e* ที่ลดลงมากกว่าสายพันธุ์อื่น เนื่องมาจากกลไกการยับยั้งแบบย้อนกลับ เช่นเดียวกับการทำงานของกลุ่มยีน *Hsfs* ทั่วไป (Baniwal *et al.*, 2004; Ai-Ling *et al.*, 2010)

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของกลุ่มยีน *HsfA2* ในสภาวะเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสูงในช่วงระยะสีบพันธุ์ R_2 (3-5 วัน) ในข้าวมีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงมีแนวโน้มลดลง ยกเว้น *HsfA2a* ในสายพันธุ์ทนร้อนที่ถูกชักนำให้มีการแสดงออกที่สูงขึ้นกว่าสายพันธุ์ไวต่อไต้ปี้ และสายพันธุ์อ่อนแอ

จากการตรวจสอบการแสดงออกของยีน *HsfA4d* พบว่า ในสภาวะอุณหภูมิสูงนั้น ถูกชักนำให้มีการแสดงออกที่สูงขึ้นในส่วนของดอก ยกเว้นสายพันธุ์กลายอ่อนแอ M7766 ที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 14 และภาพที่ 4) ซึ่งแสดงให้เห็นเบื้องต้นว่า ยีน *HsfA4d* มีส่วนเกี่ยวข้องกับกลไกการตอบสนองต่อความเครียดเนื่องจากความร้อนในส่วนของเนื้อเยื่อดอก ซึ่งโดยสภาวะปกติแล้ว ยีน *HsfA4d* มีการแสดงออกในส่วนเนื้อเยื่อใบน้อยกว่าเนื้อเยื่อชนิดอื่น และระดับการแสดงออกที่ต่ำในส่วนเนื้อเยื่อดอก (Ai-Ling *et al.*, 2010) จากการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า กลไกการปรับตัวให้ทนต่อความร้อนในระยะสีบพันธุ์ ของข้าวขึ้นเกี่ยวข้องกับการชักนำให้มีการแสดงออกที่สูงขึ้นของยีน *HsfA4d* ในส่วนของดอก แต่เมื่อพิจารณาการแสดงออกของยีนนี้ในส่วนของใบ พบว่า ในสภาวะเดียวกันนี้ถูกยับยั้งให้มีการแสดงออกที่ลดลงทุกสายพันธุ์กลาย ยกเว้น

สายพันธุ์ JHN ที่มีรูปแบบการแสดงออกที่สูงขึ้นกว่าสภาวะควบคุม ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า การตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงในส่วนของใบนั้นเกิดขึ้นไวกว่าในส่วนของเนื้อเยื่อดอก แล้วเกิดปฏิกิริยายับยั้งการแสดงออกแบบย้อนกลับ เช่นเดียวกับ *Hsfs* ทั่วไป โดยในสายพันธุ์กลายนั้นเกิดขึ้นได้รวดเร็วกว่าสายพันธุ์ JHN

จากการตรวจสอบการแสดงออกของยีน *OsHsfA7* ในสภาวะอุณหภูมิสูง ในส่วนเนื้อเยื่อดอก พบว่า มีรูปแบบการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะปกติ ในทุกสายพันธุ์ ยกเว้น สายพันธุ์กลายทนร้อน M9962 ที่มีรูปแบบการแสดงออกที่ลดลง (ตารางที่ 14 และภาพที่ 4) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ในสภาวะเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสูงนี้ มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน *OsHsfA7* โดยที่สายพันธุ์ทนร้อน ถูกชักนำให้มีการแสดงออกที่ไว และรวดเร็วกว่า เกิดการสะสมโปรตีนฮีตช็อก รวมทั้งโปรตีนอื่น ๆ ในวิถีทนร้อน จนเกิดปฏิกิริยายับยั้งการแสดงออก จึงทำให้การแสดงออกนั้นต่ำกว่าสภาวะปกติ เพื่อรักษาสมดุลของโปรตีนในวิถีการทนร้อน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลอง Ai-Ling *et al.* (2010) ได้รายงานว่ายีน *OsHsfA7* มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงอย่างรวดเร็วภายใน 10 นาทีหลังจากที่ได้รับความร้อน และพบว่าการสะสม mRNA เมื่ออยู่ในสภาวะเครียดเป็นระยะเวลาหนึ่งแล้วจึงลดระดับการแสดงออกของยีน แต่เมื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีนนี้ในส่วนของใบ กลับไม่พบการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการแสดงออกของยีนที่ต่างจากไปจากสภาวะควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การตอบสนองต่อความเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสูงของยีน *OsHsfA7* ในระยะสืบพันธุ์ เกิดการตอบสนองในส่วนของเนื้อเยื่อดอก หรือ อาจจะเป็นไปได้ว่า ได้เกิดการตอบสนองในส่วนของใบในระยะเวลาอันสั้น ก่อนการเปลี่ยนแปลงในส่วนของเนื้อเยื่อดอก

จากการตรวจสอบการแสดงออกของยีน *OsHsfA9* ในสภาวะอุณหภูมิสูง พบว่า ไม่พบการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการแสดงออกของยีนที่เปลี่ยนไป (การเปลี่ยนแปลงใกล้เคียง 1) จากสภาวะปกติ ทั้งในส่วนเนื้อเยื่อใบ และดอก ซึ่งผลการทดลองนี้ สอดคล้องกับการทดลองของ Ai-Ling *et al.* (2010) ที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของยีนนี้ เมื่อข้าวอยู่ในสภาวะเครียดจากอุณหภูมิสูง เนื่องจากโปรโมเตอร์ของยีน *OsHsfA9* ไม่มี heat shock element (HSE) ดังนั้นจึงเป็นได้ว่าการแสดงออกของยีนนี้ ไม่เกี่ยวข้องกับกลไกการทนต่ออุณหภูมิสูงในข้าว แต่อย่างไรก็ดี พบว่า *OsHsfA9* นี้ตอบสนองต่อความเครียดอื่น ได้แก่ ความเครียดเนื่องจากเกลือ (salt stress) ความแห้งแล้ง (drought stress) และ ความหนาวเย็น (cold stress) (Ai-Ling *et al.*, 2010)

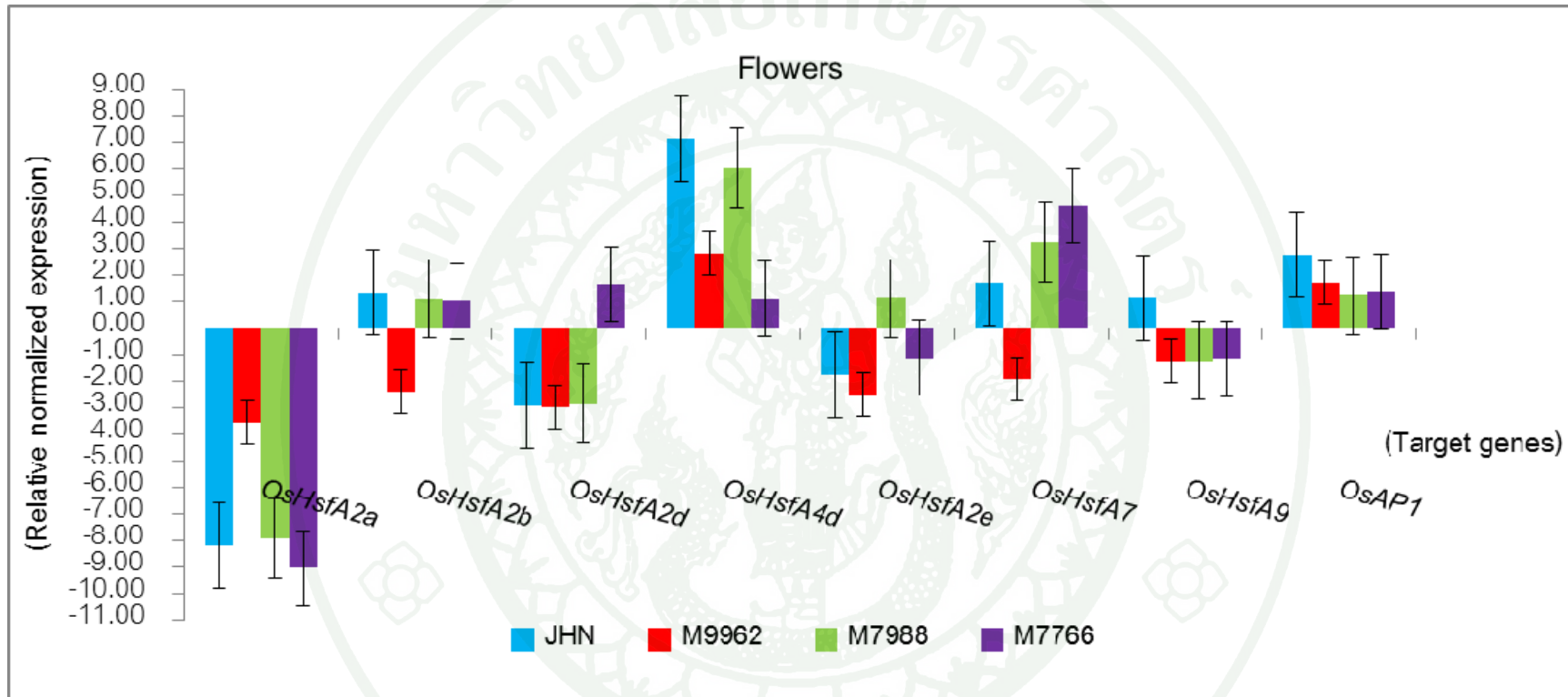
ดังนั้นจากผลการทดลองทั้งหมดจะเห็นได้ว่า สภาวะเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสูงตลอดระยะสืบพันธุ์ R_2 นั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน *OsHsfA2a*, *OsHsfA2b*, *OsHsfA2d* และ *OsHsfA2e* (กลุ่ม A2) *OsHsfA4d*, *OsHsfA7* ทั้งในส่วนเนื้อเยื่อใบ และดอก แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกต่อยีน *OsHsfA9* โดยความไวในการตอบสนองของแต่ละสายพันธุ์นั้นแตกต่างกัน โดยที่ สายพันธุ์กลายพันธุ์ร้อน M9962 มีรูปแบบการตอบสนองที่แตกต่างจากสายพันธุ์อ่อนแอ M7766 อย่างชัดเจน กลไกการทนร้อนในสายพันธุ์กลายพันธุ์ M9962 นี้ เกี่ยวเนื่องกับการทำงานของยีน *OsHsfA2a*, *OsHsfA2b*, *OsHsfA2d* *OsHsfA2e*, *OsHsfA4d* และ *OsHsfA7* นั้นเอง

การตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในการพัฒนาดอก

จากการศึกษาการแสดงออกของยีน *OsAP1* ซึ่งเป็นยีนที่อยู่ในแฟมมิลี MADS BOX ที่ทำหน้าที่ควบคุมการออกดอก และการพัฒนาดอกในข้าวสายพันธุ์กลายพันธุ์ร้อน M9962 ทนร้อนปานกลาง (M7988) อ่อนแอ (M7766) และ พันธุ์ไวต์ไต้ปี JHN ในสภาวะอุณหภูมิสูง พบว่า ในสภาวะอุณหภูมิสูงนี้มีการชักนำให้ยีน *OsAP1* มีการแสดงออกที่สูงขึ้นกว่าสภาวะปกติในส่วนเนื้อเยื่อดอกในสายพันธุ์ไวต์ไต้ปี (2.77 เท่า) และพันธุ์กลายพันธุ์ร้อน M9962 (1.72 เท่า) ส่วนสายพันธุ์ในการเปลี่ยนแปลงไม่ถึง 1.5 เท่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิสูงมีผลต่อการออกดอก และการพัฒนาดอกในข้าว ดังเช่นรายงานของ Craufurd *et al.* (2000) อุณหภูมิสูงชักนำให้ถั่วลิสงมีออกดอกดอกที่เร็วขึ้น แต่อย่างไรก็ดี สายพันธุ์ M7988 และ M7766 นั้นมีผลการเปลี่ยนแปลงที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงน้อยมาก จึงเป็นไปได้ว่า การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นภายในจีโนมของทั้งสองสายพันธุ์นี้ อาจจะมีผลกระทบต่อออกดอก และการพัฒนาดอกในสภาวะอุณหภูมิสูง

ตารางที่ 14 ค่าการแสดงออกของยีน *Heat shock transcription factor* และ *MADS box* จากเนื้อเยื่อตอก (fold change)

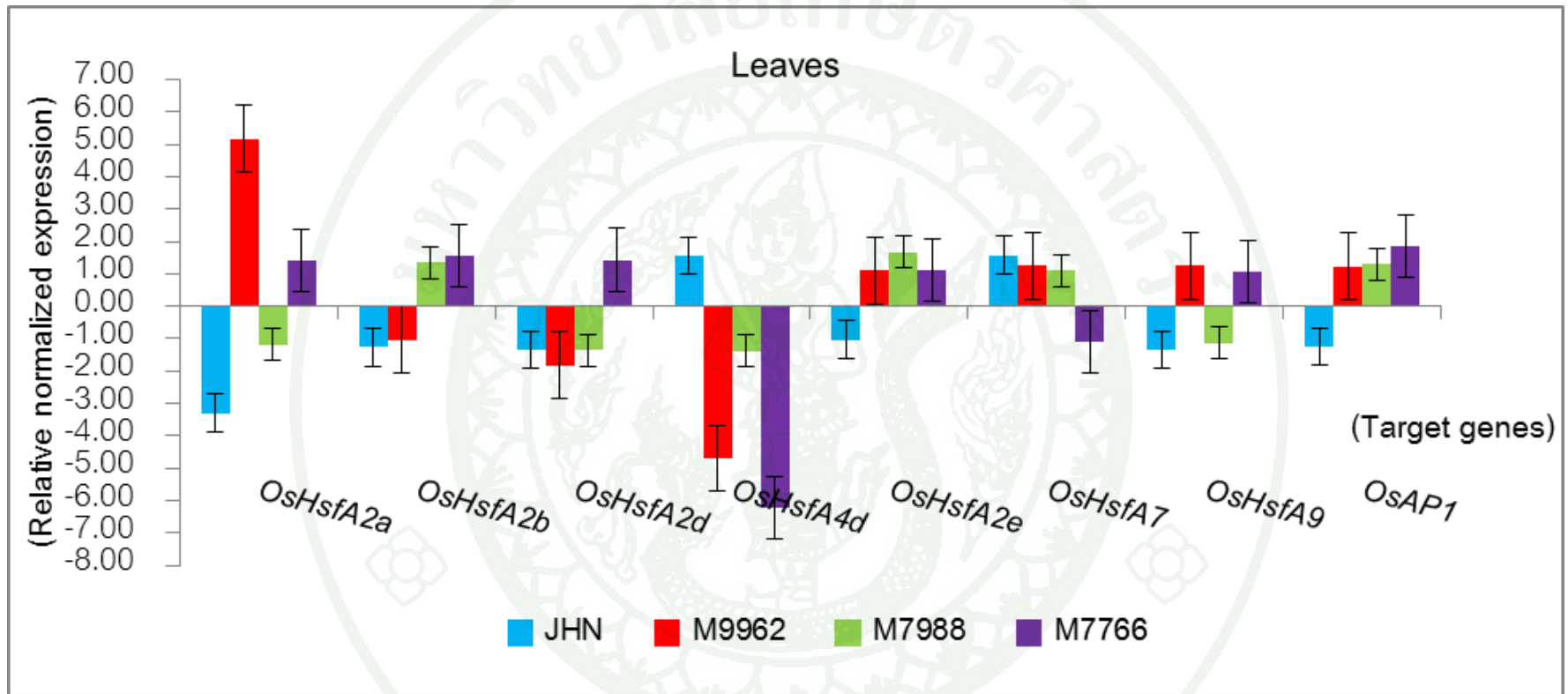
Varieties	<i>OsHsfA2a</i>	<i>OsHsfA2b</i>	<i>OsHsfA2d</i>	<i>OsHsfA4d</i>	<i>OsHsfA2e</i>	<i>OsHsfA7</i>	<i>OsHfsA9</i>	<i>OsAP1</i>
JHN	-8.22	1.34	-2.93	7.11	-1.79	1.68	1.12	2.77
M9962	-3.56	-2.39	-2.99	2.83	-2.50	-1.96	-1.27	1.72
M7988	-7.94	1.08	-2.87	6.02	1.11	3.23	-1.24	1.21
M7766	-9.06	1.01	1.65	1.09	-1.13	4.59	-1.16	1.37



ภาพที่ 4 การแสดงออกของ Heat shock transcription factor และ MADS box จากเนื้อเยื่อดอก (fold change)

ตารางที่ 15 ค่าการแสดงออกของยีน *Heat shock transcription factor* และ *MADS box* จากเนื้อเยื่อใบ (fold change)

Varieties	<i>OsHsfA2a</i>	<i>OsHsfA2b</i>	<i>OsHsfA2d</i>	<i>OsHsfA4d</i>	<i>OsHsfA2e</i>	<i>OsHsfA7</i>	<i>OsHfsA9</i>	<i>OsAP1</i>
JHN	-3.29	-1.27	-1.35	1.56	-1.03	1.58	-1.36	-1.26
M9962	5.17	-1.03	-1.82	-4.69	1.09	1.24	1.25	1.23
M7988	-1.18	1.35	-1.36	-1.38	1.67	1.11	-1.14	1.29
M7766	1.41	1.57	1.43	-6.23	1.13	-1.09	1.07	1.84



ภาพที่ 5 การแสดงออกของยีน Heat shock transcription factor และ MADS box จากเนื้อเยื่อใบ (fold change)

สรุป

1. จากการปลูกข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิล และเจ้าหอมนิลสายพันธุ์กลายในสภาพอุณหภูมิปกติ และสภาพอุณหภูมิสูง มีผลต่อพีโนไทป์ที่ศึกษา ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดดีต่อต้น จำนวนกอกต่อต้น ความยาวรวง และน้ำหนักรวง โดยข้าวที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิปกติมีค่ามากกว่าในสภาพอุณหภูมิสูง แต่จำนวนรวง และความสูงต้นของข้าวที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงมีค่ามากกว่าในสภาพอุณหภูมิปกติ ส่วนความมีชีวิตของละอองเกสรทั้งในสภาพอุณหภูมิปกติ และสภาพอุณหภูมิสูงไม่มีความแตกต่างกัน
2. พันธุ์ JHN มีค่าความยาวรวง และความสูงต้นมากที่สุด ซึ่งความยาวรวง และความสูงต้นในสภาพอุณหภูมิสูงมีค่ามากกว่าในสภาพอุณหภูมิปกติ แต่ค่าเฉลี่ยของพันธุ์ M9962 มีค่าเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด และจำนวนกอกต่อต้นสูงที่สุด โดยเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดไม่มีความแตกต่างกันกับสภาพการปลูกระหว่างอุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูง นอกจากนี้ค่าเฉลี่ยของพันธุ์ M7988 มีค่าน้ำหนักเมล็ดดีต่อต้น และน้ำหนักรวงมากที่สุด และการปลูกในสภาพอุณหภูมิปกติมีค่ามากกว่าในสภาพอุณหภูมิสูง และค่าเฉลี่ยของพันธุ์ M7766 ค่าน้ำหนัก 100 เมล็ด และจำนวนรวง มากที่สุด แต่ค่าค่าเฉลี่ยความมีชีวิตของละอองเกสรของทุกพันธุ์ในทุกสภาพการปลูกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
3. การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดในสภาพอุณหภูมิปกติมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักเมล็ดดีต่อต้น น้ำหนักรวง และจำนวนรวง แต่มีความสัมพันธ์ในทางตรงกันข้ามกับน้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ด และไม่มีความสัมพันธ์กับความมีชีวิตของละอองเกสร ความสูงต้น จำนวนกอก และความยาวรวง ส่วนสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดในสภาพอุณหภูมิสูงมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักเมล็ดดีต่อต้น และน้ำหนักรวง แต่มีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงข้ามกับน้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนกอก และจำนวนรวง และไม่มีความสัมพันธ์กับความมีชีวิตของละอองเกสร ความสูงต้น และความยาวรวง

4. จากการตรวจสอบการแสดงออกของยีนจากการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน Heat shock transcription factor และ MADS box ที่ใบ และดอกในระยะ R_2 พบว่า อุณหภูมิสูงมีผลต่อการแสดงออกของยีน *OsHsfA2a* *OsHsfA2b* *OsHsfA2d* *OsHsfA2e* *OsHsfA4d* *OsHsfA7* และ *OsAP1* ยกเว้น *OsHsfA9* โดยมีความไวของการตอบสนองของแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน ซึ่งการแสดงออกของสายพันธุ์กลายพันธุ์ร้อน M9962 มีรูปแบบการตอบสนองที่แตกต่างจากสายพันธุ์อ่อนแอ M7766 อย่างชัดเจน ซึ่งกลไกการทนร้อนในสายพันธุ์ M9962 เกี่ยวเนื่องกับการทำงานของยีน *OsHsfA2a* *OsHsfA2b* *OsHsfA2d* *OsHsfA2e* *OsHsfA4d* และ *OsHsfA7*



เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมอุตุนิยมวิทยา. 2553. รายงานสภาวะอากาศประเทศไทย เดือนมีนาคม - เมษายน 2553.

_____. 2555. **สรุปสภาวะอากาศในรอบปี**. แหล่งที่มา:

<http://www.tmd.go.th/climate/climate.php?FileID=5>, 30 มกราคม 2556.

กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2544. **การปรับปรุงพันธุ์: ความหลากหลายของแนวความคิด**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

กฤษณา หมีนยุทธิ. 2555. **การทดสอบและคัดเลือกพันธุ์ข้าวทนทานสภาพอุณหภูมิสูง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กณิตา ธนเจริญชนภาส และ โอรส รักชาติ. 2552. ผลกระทบของสภาวะอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในฤดูการปลูกที่มีต่อผลผลิตและอนุภาคเม็ดแป้งของข้าวหอมไทย (*Oryza sativa* L.) พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, น. 282-290. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 (สาขาพืช)**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จวีร์รัตน์ มงคลศิริวัฒนา. 2553. **เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ Real-Time PCR & Applications**. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

จันทกานต์ อรรถนันท์. 2544. **การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในหญ้าเนเปียร์แคระโดยรังสีแกมมา ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชลลดา ถาคำมี. 2545. อิทธิพลของอุณหภูมิสูงในระยะตั้งท้อง และผสมเกสรต่อการผสม
เกสร และองค์ประกอบผลผลิตของข้าวนาปรังในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.

วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ณริศา สัตโกวิท. 2550. การศึกษาลักษณะทางจีโนไทป์ และฟีโนไทป์ของยีน

metallothionein กลายในข้าวเจ้าหอมนิล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทวี คุปต์กาญจนากุล. 2541. เอกสารประกอบการบรรยายหลักสูตรเทคโนโลยีการผลิต

ข้าวหอมมะลิคุณภาพดีความรู้เรื่องข้าวและเทคโนโลยีการผลิตข้าว. กรมวิชาการ

เกษตร และกรมส่งเสริมสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

นงเยาว์ แก้ววิเศษ. 2553. การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพจาก

คู่ผสมระหว่างข้าว Tropical Japonica และ Indica. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิทัศน์ ไชยสงคราม. 2555. การทดสอบพันธุ์ข้าวพื้นเมืองภาคใต้ และการแสดงออกของ

ยีนโปรตีน Heat shock ในสภาพอุณหภูมิสูง. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี,

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญหงษ์ จงคิด. 2553. ข้าวและเทคโนโลยีการผลิต. พิมพ์ครั้งที่ 1.

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พรรณณี รอดแรงบุญ. 2536. การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในข้าวพันธุ์ปทุมมาติ 370

โดยรังสีแกมมา ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มาลินี อัครดิษฐเลิศ. 2547. การกลายพันธุ์. แหล่งที่มา:

<http://www.biotec.or.th/biotechnology-th>, 9 ธันวาคม 2556.

เมวีกา จอมทะรักษ์. 2556. **การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเจ้าหอมนิลพันธุ์กลายที่ทนทานต่อ
อุณหภูมิสูงในระยะเจริญพันธุ์.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วัชรินทร์ ชื่นสุวรรณ. 2554. **พืชเศรษฐกิจ.** แหล่งที่มา:

https://www.google.co.th/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&cad=rja&vnd=0CDUQFjAE&url=http%3A%2F%2Fwww.natres.psu.ac.th%2FDepartment%2FPlantScience%2F510211%2Flecturenote%2Fdocument%2Frice.doc&ei=vIK9UuTsGKutiQe1fg&usq=AFQjCNGaJVJvgV8N_wqSS39Ests56V4VQ&bvm=bv.58187178,d.dGI, 19 ธันวาคม 2556.

วาสนา ผลรักษ์. 2540. **การผลิตข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และการผลิตข้าวสาลี
ข้าวบาร์เลย์ ในประเทศไทย.** ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว. 2556. **รายงานความก้าวหน้าโครงการวิจัยการพัฒนาข้าวเพื่อลด
ผลกระทบของสภาวะโลกร้อนในระยะสีบพันธุ์ และให้ผลผลิต.**
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ศิริพัฒน์ เรืองพยัคฆ์, สมศักดิ์ แซ่ซู้, นงนารถ พ่อคำ, เอกวัฒน์ ไชยชุมภู, ศิวเรศ อารีกิจ, อนุชา พลับพลา, สุภาพร พรหมพันธุ์, วินิตชาญ รื่นใจชน, ธีรยุทธ ตูจันดา, สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง,
รัชนี้ คงคาฉาย และ อภิชาติ วรรณวิจิตร. 2553. **แหล่งกำเนิดความแปรปรวนทาง
พันธุกรรมเพื่อการค้นหาหน้าที่ของยีนและการปรับปรุงพันธุ์.** แหล่งที่มา:
<http://www.thairice.org/ht/riceforum/rice2010/indexlist.php>, 19 ธันวาคม 2556.

ศุภนารี ณ มา. 2551. **การถ่ายทอดลักษณะเกสรตัวผู้เป็นหมันในดาวเรือง.** วิทยานิพนธ์
ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ประทุมพร ขอดแก้ว. 2551. **ผลของอุณหภูมิต่อการถ่ายทอดลักษณะดอกเพศผู้เป็นหมันในดาวเรือง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย และ สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

2548. **อณูพันธุศาสตร์**. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัทเท็กซ์ แอนด์ พับลิเคชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ.

สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. 2539. **การปรับปรุงพันธุ์พืช**. ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อนุศักดิ์ ภิญโญพิชญ์. 2548. **บทบาทของ MADS-box ยีนในช่วงการเจริญของเกสรเพศเมีย และ ไข่อ่อนในอะราบิดอพิสิส**. แหล่งที่มา:

https://www.google.co.th/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CCoQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww1.nrct.go.th%2Fdownloads%2Fmads_thesis48.doc&ei=N_zbUszFKYeFrgfBj4CoBQ&usg=AFQjCNG5mXlaY7mHelvZuXE8c3DAY37aA&bvm=bv.59568121,d.bmk, 20 ธันวาคม 2556.

อรรควุฒิ ทศน์สองชั้น และ นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์. 2547. **พืชเศรษฐกิจ**. ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

Ai-Ling, L., J. Zou, X.W. Zhang, X.Y. Zhou, W.F. Wang, X.Y. Xiong, L.Y. Chen and X.B. Chen. 2010. Expression profiles of class a rice heat shock transcription factor genes under abiotic stresses. **Plant Biology** 53: 142-149.

Baker, J.T., L. Allen, L.H. Jr and K.J. Boote. 1992. Response of rice to carbon dioxide and temperature. **Agri. For. Meteorol.** 60: 153-166.

- Baniwal S.K, K. Bharti, K.Y. Chan, M. Fauth, A. Ganguli, S. Kotak, S.K. Mishra, L. Nover, M. Port, K.D. Scharf, J. Tripp, C. Weber, D. Zielinski and P. von Koskull-Döring. 2004. Heat stress response in plants: a complex game with chaperones and more than twenty heat stress transcription factors. **J. Biosci.** 29: 471-487.
- Cao, Y.Y., H. Duan, L.N. Yang, Z.Q. Wang, S.C. Zhou and J.C. Yang. 2008. Effect of heat stress during meiosis on grain yield of rice cultivars differing in heat tolerance and its physiological mechanism. **Acta Aronomic Sinica** 34: 2134-2142.
- Craufurd, P. Q, T. R. Wheeler, R. H. Ellis, R. J. Summerfield and P. V.V. Prasad. 2000. Escape and tolerance to high temperature at flowering in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **J. Agricultural Sci.** 135: 371-378.
- Childs, N. and K. Baldwin. 2010. **Rice outlook. A report from the Economic Research Service.** Available Source: <http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/current/RCS/RCS-01-13-2010.pdf>., December 31, 2013.
- Ebrahim, M.K., O. Zingsheim, M.N. El-Shourbagy, P.H. Moore and E. Komor. 1998. Growth and sugar storage in sugarcane grown at temperature below and above optimum. **Plant Physiology** 153: 593-602.
- Ellise, R.H., A. Qi, R.J. Summerfield and E.H. Roberts. 1993. Rates of leaf appearance and panical development in rice (*Oryza sativa* L.): A comparison at three temperatures. **Agr. Meteorol.** 66:129-138.
- FAO. 2008. **FAOSTAT Database.** Available source: <http://www.faostat.fao.org>, December 16, 2013.

- Fischer, R.A. 1983. Wheat, pp. 129-154. *In* Smith, W.H. and S.J. Banta, eds. **Potential productivity of field crops under different environment**. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.
- Foolad, M.R. 2005. Breeding for abiotic stress tolerances in tomato, pp. 613-684. *In*. Asharf, M. and Harris, P.J.C., eds. **Abiotic stress: Plant resistance through breeding and molecular approaches**. The Howorth Press Inc., New York, USA.
- Gilchrist, E.J., N.J. O'Neil, A.M. Rose, M.C. Zetka and G.W. Haughn. 2006. TILLING is an effective reverse genetics technique for *Caenorhabditis elegans*. **BMC Genomics** 7: 262
- Grist, D.H. 1986. **Rice**. Longman Singapore Publishers, Singapore.
- Gunter, T., A. Becker, A.D. Rosa, A. Kanno, J.T. Kim, T. Munster, K.U. Winter and H. Saedler. 2000. A short history of MADS box genes in plants. **Plant Molecular Biology** 42: 115-149.
- _____ and H. Saedler. 2001. Flower structure and the quartet model of floral organ specification in Arabidopsis. **Nature** 409: 469-471.
- Hu, W.G. and B. Han. 2009. Genome-wide survey and expression profiling of heat shock proteins and heat shock factors revealed overlapped and stress specific response under abiotic stresses in rice. **Plant Sci.** 176: 583-590.
- IPPC. 2007. Summary for policy makers, p 21. *In* **Climate change 2007**. The physical science basis.
- IRRI. 1975. **Rice research strategies for the future**. Los Banos, Philippines.

- Jagadish, S.V.K., R. Mathurajan, R. Oane, T.R. Wheeler, S. Heuer, J. Bennett and P.Q. Carurfurd. 2010. Physiological and proteomic approaches to address to address heat tolerance during anthesis in rice (*Oryza sativa* L.). **J. Exp Bot.** 61: 143-156.
- Key, J.L., C.Y. Lin and Y.M. Chen. 1981. Heat shock protein of higher plants. **Proc. Natl. Acad Sci.** 78: 3526-3530.
- _____, J. Kimpel and E. Vierling. 1985. Physiological and molecular analyses of heat shock response in plants, pp. 327-348. *In* B.G. Atkinson and D.B. Walden, eds. **Changes in eukaryotic gene expression in response to environmental stress.** Orlando Academic Press.
- _____, R.T. Nagao and E. Czarnecka. 1987. Heat stress: Expression and structure of heat shock protein, pp. 385-397. *In* Von Wettstein D. and N.H. Chua, editor. **Plant Molecular Biology.** Plenum Publ. Crop, New York.
- Kotak S, M. Port, A. Ganguli, F. Bicker and P. Von Koskull-Döring. 2004. Characterization of C-terminal domains of Arabidopsis heat stress transcription factors (Hsf) and identification of a new signature combination of plant class A Hsfs with AHA and NES motifs essential for activator function and intracellular localization. **Plant J.** 39:98-112.
- Krishnan, P., B. Ramakrishnan, K.R. Reddy and V.R. Reddy. 2011. High-temperature effects on rice growth yield and grain quality. **Advances in Agron.** 111: 88-89.
- Kropff, M.J., K.G. Cassman, S. Peng, R.B. Matthews and T.L. Setter. 1994. Quantitative understanding of yield potential, pp. 21-38. *In* Cassman, K.G., ed. **Breaking the yield Barrier.** International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

- Kubistaa, M., J. M. Andradeb, M. Bengtssona, A. Forootand, J. Jonak. K.Linda, R. Sindelkae, R. Sjobacka, B. Sjogreend, L. Stromboma, A. Stahlberga and N. Zorica. 2006. Review The real-time polymerase chain reaction. **Molecular Aspects of Med.** 27: 95-125.
- Lin, C.Y, J.R. Roberts and J.L. Key. 1984. Acquisition of thermotolerance in soybean seedings. **Plant Physiol.** 74: 152-160.
- Livak, K.J. and D. T.D. Schmittge. 2001. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. **Method** 25: 402-408.
- Lohman, C., G Eggers-Schumacher, M Wunderlich and F Schoffl. 2004. Two different heat shock transcription factor regulate immediate early expression of stress genes in *Arabidopsis*. **Mol. Gen. Genomics** 271: 11-21.
- Martinez-Castilla, L.P. and E.R. Alvarez-Buylla. 2003. Adaptive evolution in the Arabidopsis MADS-box gene family inferred from its complete resolved phylogeny. **PNAS.** 100 (23): 13407-13412.
- Matsui T., K. Omasa and T. Horie. 2000. High temperature at flowering inhibit swelling of pollen grains a driving force for the dehiscence in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Prod. Sci.** 3: 430-434.
- _____ and _____. 2002. Rice (*Oryza sativa* L.) The difference in sterility due to high temperature during the flowering period among japonica rice varieties. **Plant Prod. Sci.** 4: 90-93.

- Matsushima, S., H. Ikewada, A. Maeda, S. Honma and H. NiKi. 1982. Studies on rice cultivation in the tropic. Yielding and ripening response of the rice plant to the eatery hot and dry climate in Sudan. Japan. *J. Trop. Agr.* 26: 19-25.
- Mohammed, A.R. and L. Tarpley. 2009. High nighttime temperatures affect rice productivity through altered pollen germination and spikelet fertility. *Agr. and For. Meteorology.* 149: 999-1008.
- Muruta, Y. 1976. Productivity of rice in different climate regions of Japan, pp. 449-470. *In Proceeding of symposium on climate and rice.* IRRI. Los Banos, Phillippines.
- Nishiyama, I. 1977. Decrease in germination activity of rice seeds due to excessive desiccation in storage. *Jpn. J. Crop Sci.* 46: 111-118.
- Nover, L., K. Bharti, P. Doring, S.K. Mishra, A. Ganguli, K.D. Scharf. 2001. Arabidopsis and the heat stress transcription factor world: how many heat stress transcription factors do we need?. *Cell Stress Chaperon* 6:177-189.
- Osada, A., V. Sasiprapa and M. Rahong. 1973. Abnormal occurrence of empty grains of india rice plant in the dry hot season in Thailand. *Proc. Crop Sci. Japan* 42: 103-109.
- Perrotta, C, A.S. Treglia, G. Mita, E.P. Rampino, G. Ronga, G. Spano and N. Marmirol. 1998. Analysis of mRNAs from ripening wheat seed: the effect of high temperature. *Cereal Sci.* 27: 127-132.

- Port, M., J. Tripp, D. Zielinski, C. Weber, D. Heerklotz, S. Winkelhaus, K.D. Bubla and K.D.Scharf. 2004. Role of Hsp 17.4-Cllas coregulator and cytoplasmic retention factor of tomato heat stress transcription factor HsfA2. **Plant Physio.** 135: 1457-1470.
- Prasad P.V.V., K.J. Boote, L.H. Allen, J.E. Sheehy and J.M.G. Thomas. 2006. Species, ecotype and cultivar difference in spikelet fertility and harvest index of rice in reponse to high temperature stress. **Field Crops Res.** 95: 398-411.
- Satake, T and S. Yoshida. 1978. High temperature induced sterility in indica rice at flowering. **Jpn. J. Crop Sci.** 47: 6-17.
- Sato, K. 1960. **Physiology and Ecology of tropical rice.** Global Design Inc, Japan.
- Scharf, K.D., H. Heider, I. Hohefeld, R. Lyck, E. Schmidt and L. Nover. 1998. The tomato Hsf system: HsfA2 needs interaction with HsfA1 for efficient nuclear import and may be localized in cytoplasmic heat stress granules. **Mol.Cell Bio.** 18: 2240-2251.
- Shah, F., J. Huang, K. Cui, L. Nie, T. Shah, C. Chen and K. Wang. 2011. Climate change and agriculture paper impact of high-temperature stress on rice plant and its traits related totolerance. **J. Agr. Sci.** 1: 1-12.
- Shravan, K.M., J. Tripp, S. Winkelhaus, B. Tschiersch, K. Theres, L. Nover and K.D. Scharf. 2002., pp. 1555-1567. *In the complex family of heat stress transcription factor, HsfA1 has a unique role as master regulator of thermotolerance in tomato.* **Genes Dev.**

- Sung, D.Y., E. Vierling and C.L.Guy. 2001. Comprehensive expression profile analysis of the Arabidopsis Hsp70 gene family. *Plant Physiology* 126: 789-800.
- Takeoka, Y., M.S. Shimisu and T. Wada. 1993. *Reproductive adaptation of rice to environment stress*. Japan societies. Inc. Tokyo Japan. 226 p.
- Till, B.J., S.H. Reynolds, E.A. Greene, C.A. Codomo, L.C. Enns, J.E. Jhonson, C. Burtner, A.R. Odden, K. Young, N. Taylor, J.G. Henikoff, L. Comai and S. Henikoff. 2003. Large-scale discovery of induced point mutation with high-throughput TILLING. *Genome Reasearch*. 13 (3): 524-530.
- Takeoka, Y., M.S. Shimisu and T. Wada. 1993. *Reproductive adaptation of rice to environment stress*. Japan societies. Inc. Tokyo Japan. 226 p.
- USDA Foreign Agricultural Service. 2002. *Rice consumption and production*. Available source: <http://siteresources.worldbank.org/INTPROSPECTS/Resources/GATfulltext.pdf#page=181>, December 16, 2013.
- Vergara, B.S. and R. Lilis. 1968. Studies on the response of rice to photoperiod. IV. Effect of temperature during photo-induction. *Philippines. Agric.* 51: 66-71.
- Wahid, A., S. Gelani, M. Ashraf and M.R.. Foolad. 2007. Heat tolerance in plant: An overview. *Environmental and Experimental Bot.* 61: 199-233.
- Wakamatsu, K.I., O. Sasaki, I. Uezono and A. Tanaka. 2007. Effects of high air temperature during the ripening period on the grain quality of rice in warm regions of Japan. *Jpn. J. Crop Sci.* 76: 71-78.

- Weaich, K., K. Briston and A. Cass. 1996. Modeling pre-emergent maize shoot growth.II. High temperature stress condition. **J. Agriculture**. 88: 398-403.
- William, R.S., M. Huebner and A.P. Weber. 2007. Transcription profiling of Arabidopsis heat shock protein and transcription factors reveals extensive overlap between heat and non - heat stress response pathways. **BMC Genomics**. 8: 125.
- Yarwood C.E. 1961. Acquired tolerance in leaves to heat. **Sci**. 134: 941-942.
- _____. 1967. Adaptions of plants and plant pathogens to heat, pp. 75-89. *In* C.L. Posser, ed. **Molecular machanisms of temperature adaption**. Publ. No. 84 Washington DC: Amer Assoc Advance Sci.
- Ying, J., S. Peng, Q. He, H. Yang, C. Yang, R.M. Visperas and K.G. Cassman. 1998. Comparison of high-yield rice in tropical and subtropical environments I. Determinants of grain and dry matter yield. **Field Crops Res**. 57: 71-84.
- Yoshida, S. 1973. Effect of temperature on growth of rice plant (*Oryza sativa* L.) in control environment. **Soil Science Plant Nutrient** 19: 299-310.
- _____. 1981. **Fundamentals of rice crop science**. International rice research institute, Los Banos, Philippines.
- _____. 1983. Rice, pp. 103-127. *In* Smith, W.H. and S.J. Banta, eds. **Potential Productivity of field crop under different environments**. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

Yoshioka, Y., H. Iwata, M. Tabata, S. Ninomiya and R. Ohsawa. 2007. Chalkiness in rice: Potential for evaluation with image with image analysis. *Crop Science*. 47: 2113-2120.





ภาคผนวก

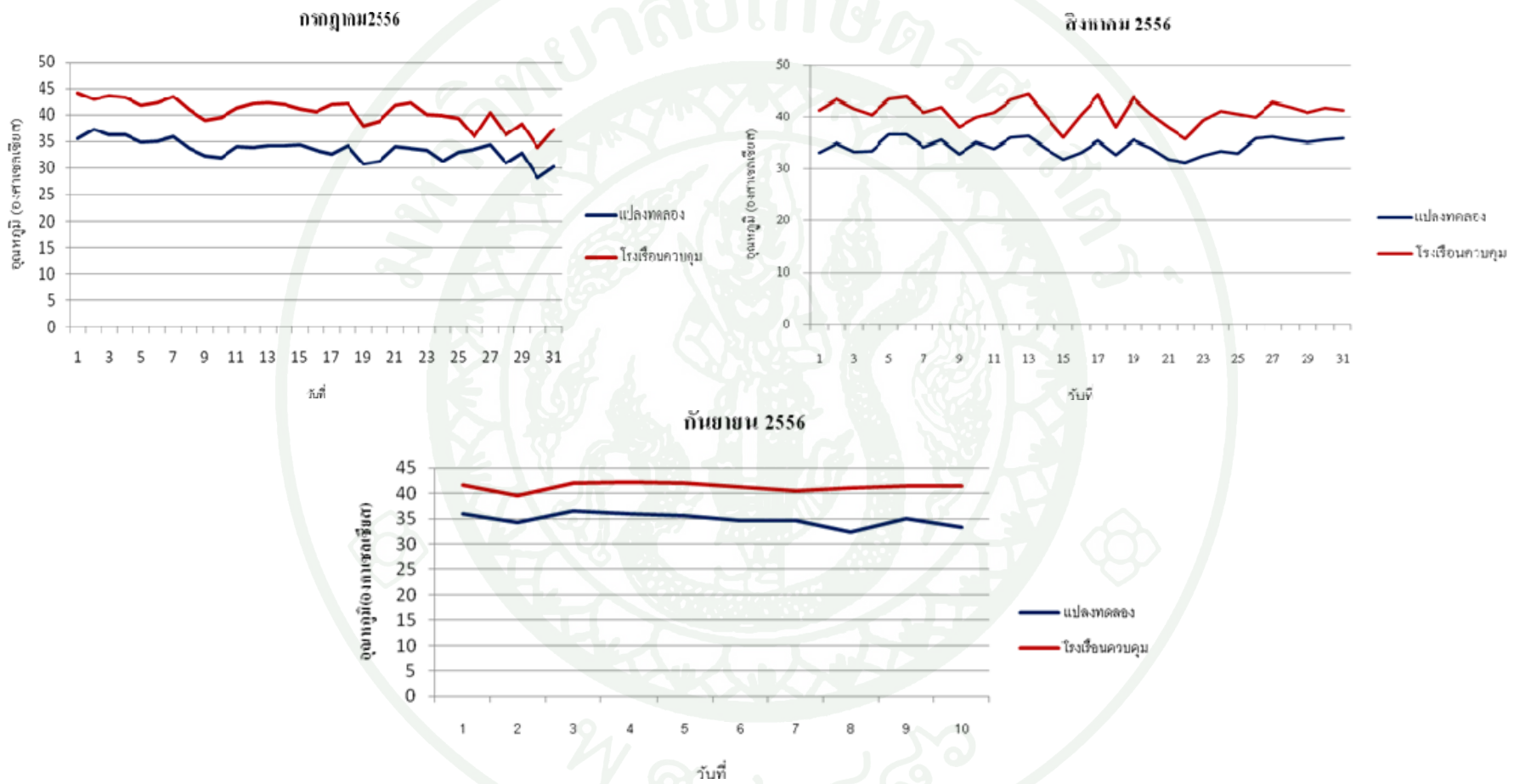
ตารางผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด ความมีชีวิตของละอองเกสร น้ำหนัก 100 เมล็ด น้ำหนักเมล็ดต่อต้น น้ำหนักรวง ความยาวรวง จำนวนกอกต่อต้น จำนวนรวงต่อต้น และความสูงต้น

Source of variation	df	Mean squares								
		Seed set (%)	Pollen viability (%)	100 seed weight	Yield/plt	Panicle weight	Panicle length	No. panicle/plt	Tiller/plt	Plant height
Temperature (T)	1	3000.94 **	13.51 ^{ns}	0.23 **	84.69 **	1.83 **	2.31 *	6.47 *	21.11 **	116.59 **
Varieties (V)	3	1672.15 **	15.92 ^{ns}	0.36 **	36.15 **	0.68 **	21.31 **	8.55 **	8.75 **	1035.04 **
Temp:var (TxV)	3	619.94 **	5.43 ^{ns}	0.19 **	2.11 ^{ns}	0.10 **	7.02 **	28.19 **	36.28 **	4.72 ^{ns}
Error	16	11.12	9.46	0.01	2.03	0.01	0.48	1.25	1.41	12.59
C.V.% (TxV)		40.38	2.49	19.32	19.72	23.55	12.58	77.91	68.20	2.75

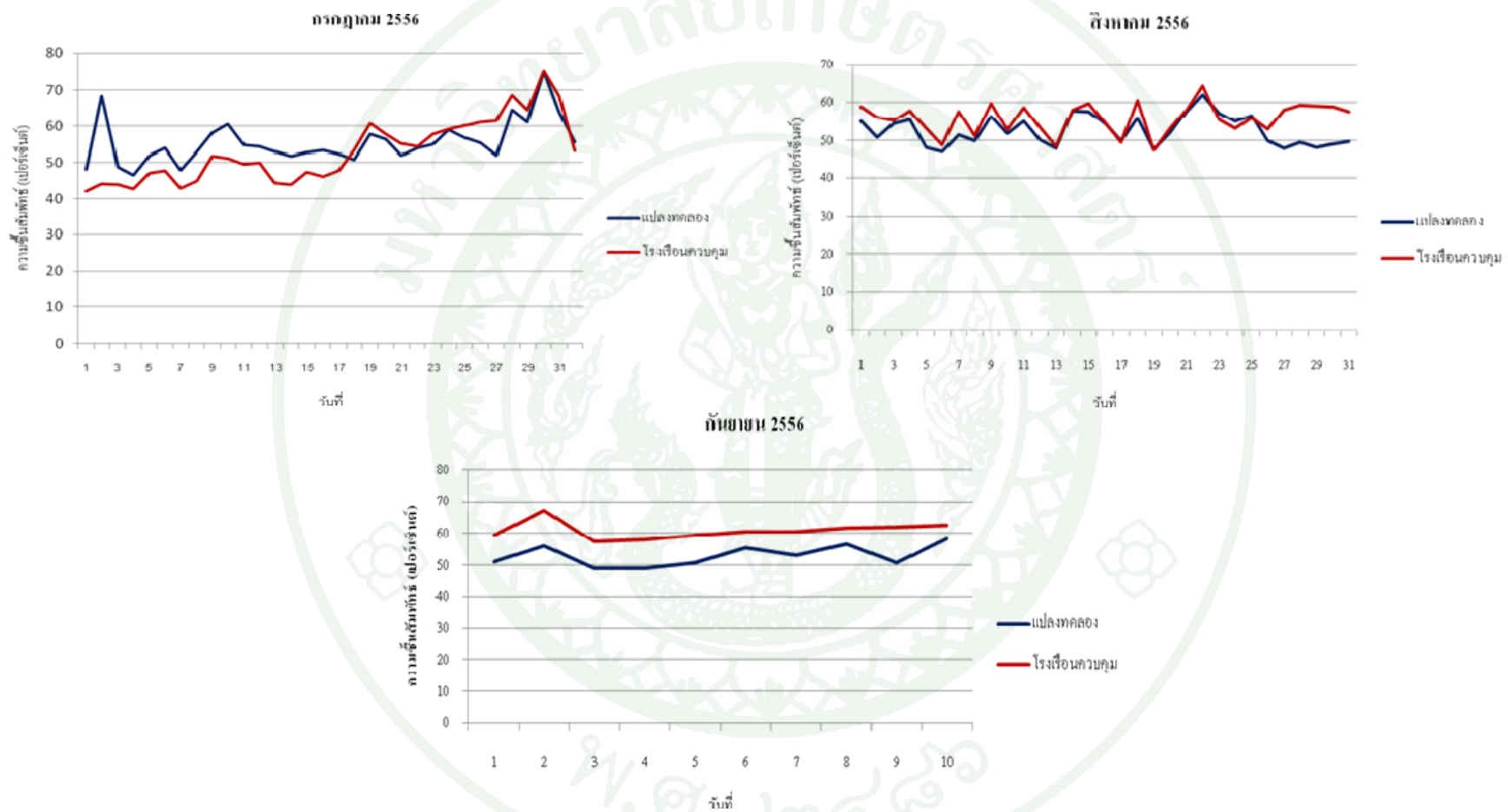
หมายเหตุ ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

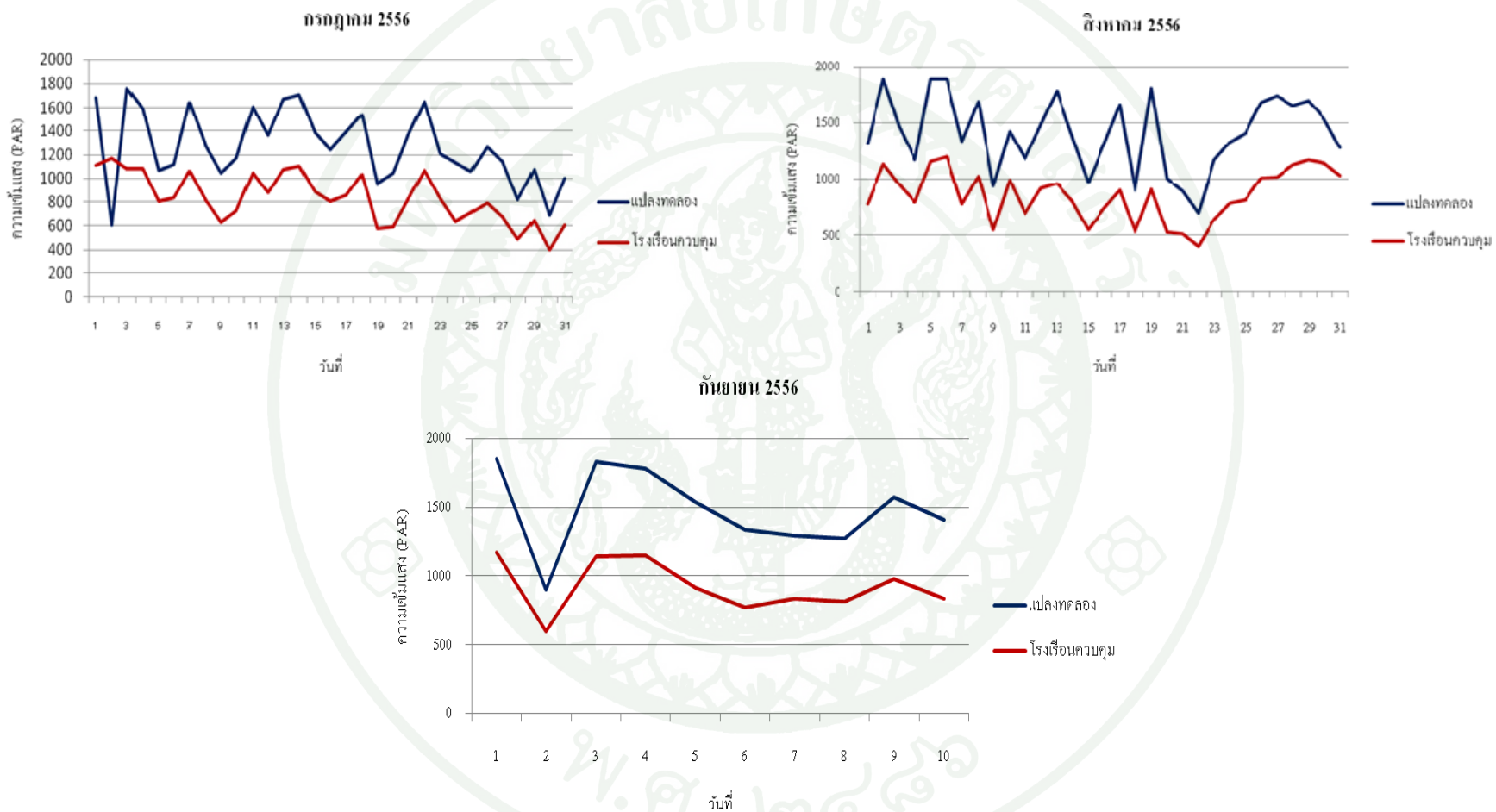
** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพผนวกที่ 1 กราฟดัชนีคุณภาพอากาศเฉลี่ยตอนกลางวัน (10.00-16.00 น.) ในสภาพโรงเรียนควบคุมคุณภาพสูง และสภาพแปลงทดลองธรรมชาติ เดือนกรกฎาคม-กันยายน พ.ศ.2556



ภาพผนวกที่ 2 กราฟความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์) เฉลี่ยตอนกลางวัน (10.00-16.00 น.) ในสภาพโรงเรียน ควบคุมอุณหภูมิสูง และสภาพแปลงทดลองธรรมชาติ เดือนกรกฎาคม-กันยายน พ.ศ.2556



ภาพผนวกที่ 3 กราฟความเข้มแสง (PAR) เฉลี่ยตอนกลางวัน (10.00-16.00 น.) ในสภาพโรงเรือน ควบคุมอุณหภูมิสูง และสภาพแปลงทดลองธรรมชาติ เดือนกรกฎาคม-กันยายน พ.ศ.2556

