

เครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับคัดเลือกพันธุ์พืชทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม

DNA Marker for Selection of Plant Tolerance to Unsuitable Environmental Conditions

จิราพร แก่นทรัพย์^{1/} ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์^{1/} ประเสริฐ วงศ์วัฒนารัตน์^{2/}
Jeeraporn Kansup^{1/} Khanitha Wongwathanarat^{1/} Prasert Wongwathanarat^{2/}

Received 5 May 2022/Revised 3 Jun. 2022/Accepted 6 Jul. 2022

ABSTRACT

Unsuitable environmental conditions such as heat, soil salinity, drought, flooding and metal, are abiotic stresses that negatively affect plant growth and development leading to reduction of yield and quality of products. Among abiotic stresses, heat, salinity and drought are common problems and are strongly associated with global climate change. DNA marker technology is nowadays used in the selection process to enhance the efficiency and accuracy of plant breeding in improvement of many agricultural traits including tolerance to environmental stress. In this review, the information about the effect of abiotic stress on plant and researches on DNA markers related to heat, salinity and drought tolerance is presented, including examples of studies to identify quantitative trait loci (QTL) associated with tolerance to these stresses and the utilisation of relevant DNA markers for selection of tolerant cultivars in rice, cassava and legume. Besides, trends of technology used for plant selection and breeding in future are discussed.

Keywords: DNA marker, Environmental stress tolerance, Heat, Salinity, Drought

1/ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110

1/ Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture, Thanyaburi, Pathumthani, 12110

2/ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ม.ธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

2/ Department of Science and Technology, Thummasat University Rangsit Center, Khlong Luang, Pathumthani 12120

* Corresponding author email: jkansupthdoa@gmail.com

บทคัดย่อ

สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น ความร้อน ความเค็มในดิน ความแห้งแล้ง น้ำท่วม และโลหะ เป็นความเครียดที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต (abiotic stress) ที่ส่งผลเสียต่อการพัฒนาการของพืชและส่งผลต่อเนื่องไปยังปริมาณและคุณภาพของผลผลิต ในบรรดาความเครียดที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต ความร้อน ความเค็ม และความแห้งแล้งเป็นปัญหาที่พบบ่อยและมีความสัมพันธ์อย่างมากกับการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศโลก ในปัจจุบัน มีการนำเทคโนโลยีเครื่องหมายดีเอ็นเอมาช่วยในการคัดเลือกพันธุ์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและความแม่นยำของกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พืชในหลายลักษณะทางการเกษตรรวมถึงความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม บทปริทัศน์นี้มีเนื้อหาเกี่ยวกับผลกระทบของความเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิตต่อพืช งานวิจัยเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับความทนทานต่อความร้อน ความเค็ม และความแห้งแล้ง ซึ่งมีตัวอย่างการศึกษาระบุตำแหน่งบนโครโมโซมที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative trait loci, QTL) ที่สัมพันธ์กับความทนทานต่อความเครียดเหล่านี้ และการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องมาใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์ทนทานในข้าว มันสำปะหลัง และพืชตระกูลถั่ว นอกจากนี้ มีเนื้อหาเกี่ยวกับแนวทางการใช้เทคโนโลยีเพื่อการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์พืชในอนาคตอีกด้วย

คำสำคัญ: เครื่องหมายดีเอ็นเอ, ความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม, ความร้อน, ความเค็ม, ความแห้งแล้ง

บทนำ

องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations: FAO) คาดการณ์ว่า การผลิตอาหารทั่วโลกมีความจำเป็นต้องเพิ่มขึ้น

70 % ภายในปี ค.ศ. 2050 เพื่อตอบสนองต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากรโลก (FAO, 2009) ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์พืชซึ่งเป็นวัตถุประสงค์หนึ่งของการผลิตอาหารจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งต้องเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการให้สามารถพัฒนาพันธุ์พืชได้ในระยะเวลาที่สั้นลงและมีความแม่นยำมากขึ้น เพื่อปรับปรุงลักษณะทางการเกษตร (trait) ต่าง ๆ เช่น ผลผลิตสูง คุณค่าทางโภชนาการสูง มีความต้านทานต่อศัตรูพืช และความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เป็นต้น แม้ว่าการปรับปรุงพันธุ์แบบเดิม (conventional breeding) มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาพันธุ์พืชมาตั้งแต่อดีต อย่างไรก็ตาม การปรับปรุงพันธุ์แบบเดิมจำเป็นต้องปลูกและคัดเลือกพันธุ์พืชจากลักษณะที่ปรากฏ (phenotype) โดยตรวจสอบประชากรพืชจำนวนมากในหลายรุ่น ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้เวลานานและแรงงานมาก จึงมีการนำเทคโนโลยีชีวภาพด้านเครื่องหมายดีเอ็นเอมาช่วยตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) และคัดเลือกพันธุ์ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์เพื่อพัฒนาพันธุ์พืชได้รวดเร็วยิ่งขึ้น เครื่องหมายดีเอ็นเอเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ช่วงหนึ่งของดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต บางเครื่องหมายดีเอ็นเอมีความสัมพันธ์กับลักษณะทางการเกษตรและสามารถใช้ติดตามการถ่ายทอดลักษณะที่สนใจได้

สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชเป็นความเครียดที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต (abiotic stress) ส่งผลกระทบเชิงลบต่อพืชโดยส่งผลเสียต่อประชากรหรือสรีรวิทยาของพืชอย่างมีนัยสำคัญ และส่งผลต่อเนื่องทำให้เกิดการสูญเสียผลผลิตทางการเกษตร ความเครียดที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิตมีหลายรูปแบบ ได้แก่ อุณหภูมิ (ความร้อนหรือความเย็นจัด) ระดับเกลือที่สูงขึ้น ความแห้งแล้ง น้ำท่วม โลหะในดิน การขาดแคลนธาตุอาหาร และภัยธรรมชาติอื่น ๆ เช่น พายุ และไฟป่า เป็นต้น เครื่องหมายดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับ

ความทนทานต่อสภาวะเครียดต่าง ๆ เป็นเครื่องมือสำคัญในการคัดเลือกและพัฒนาพันธุ์พืชให้มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเพื่อลดการสูญเสียผลผลิต และรองรับกับปัญหาการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศของโลกอีกด้วย

ความเครียดของต้นพืช (Plant stress)

ความเครียดของต้นพืชเป็นสภาวะที่เกิดขึ้นกับพืช เมื่อต้นพืชต้องเผชิญกับสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยพืชจะมีการตอบสนองต่อสภาวะไม่เหมาะสมนั้นๆ ในรูปแบบที่แตกต่างกันไป ปัจจัยที่ทำให้พืชเกิดความเครียดมี 2 รูปแบบ ได้แก่ 1) ความเครียดจากปัจจัยทางกายภาพ (abiotic stress) เช่น สภาวะแห้งแล้ง การมีน้ำท่วมขัง ความเค็มของดิน ความร้อน ความเย็น และการขาดธาตุอาหาร 2) ความเครียดจากปัจจัยทางชีวภาพ (biotic stress) เช่น การที่พืชถูกแมลงเข้ากัดกิน การเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคพืช เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไวรอยด์ และการปล่อยสารจากพืชในบริเวณใกล้เคียงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชหลัก (Gull *et al.* , 2019) ในบทปริทัศน์นี้ จะนำเสนอเฉพาะความเครียดของพืชที่เกิดจากสิ่งไม่มีชีวิต

ผลกระทบของความเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิตต่อพืช

ความเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิตทำให้พืชไม่สามารถแสดงออกทางพันธุกรรมได้อย่างสมบูรณ์ เกิดการเปลี่ยนแปลงในการจัดสรรการใช้ประโยชน์ของสารอาหารที่พืชมีอยู่ ความสามารถในการสังเคราะห์ทางชีวภาพ (biosynthetic capacity) ของพืช จนท้ายที่สุดการเจริญเติบโตของพืชจะหยุดชะงัก (Younis *et al.* , 2020) ความเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิตบางชนิดกระตุ้นการผลิต reactive oxygen species (ROS) ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากออกซิเจน ประกอบด้วยโมเลกุลที่ไม่เสถียรอย่างมากและออกซิเจนที่พร้อมทำปฏิกิริยา การผลิต ROS ในปริมาณมากเกินไปจะเป็นพิษและเกิด

ปฏิกิริยาทำลายคาร์โบไฮเดรต ไขมัน กรดนิวคลีอิก และโปรตีน ซึ่งส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของพืชตลอดจนผลผลิตและคุณภาพที่ลดลง (Figure 1) ระบบป้องกันสภาวะเครียดของพืชจะถูกกระตุ้นหลังจากการรับรู้ถึงความเครียด วิธีการส่งสัญญาณหลายทางจะเริ่มทำงานโดยขึ้นอยู่กับประเภทของความเครียด วิธีการป้องกันโดยทั่วไปถูกควบคุมโดยเอนไซม์ไคเนส (kinase enzyme) และฮอร์โมนพืช เช่น ช่องไอออน (ion channel) ถูกกระตุ้นด้วยฮอร์โมนพืชกรดจัสโมนิก (jasmonic acid : JA) กรดแอบไซซิก (abscisic acid : ABA) เอทิลีน (ethylene : ET) และกรดซาลิไซลิก (salicylic acid : SA) และเกี่ยวข้องกับการผลิต ROS ปัจจัยเหล่านี้จะปรับเปลี่ยนกระบวนการทางพันธุกรรมหรือการแสดงออกของยีนและเมตาบอลิซึมใหม่ ทำให้เกิดการตอบสนองการป้องกันที่ช่วยลดการสูญเสียที่เกิดจากความเครียด (Rejeb *et al.* , 2014)

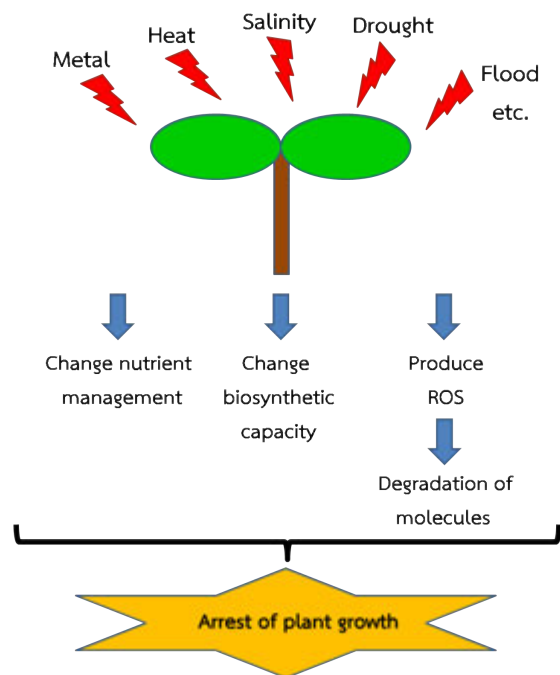


Figure 1 Effect of abiotic stress on plant

ยีนที่ตอบสนองต่อความเครียดสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ได้แก่ ยีนที่ถูกชักนำในช่วงต้น (early-induced gene) และยีนที่ถูกชักนำในช่วงปลาย (late-induced gene)

ยีนที่ถูกชักนำในช่วงต้นจะได้รับการกระตุ้นทันทีหลังจากได้รับสัญญาณความเครียด ยีนเหล่านี้ส่วนมากจะแสดงออกมาในช่วงเวลาระยะสั้น ได้แก่ กลุ่มยีน transcription factor เช่น ยีน abscisic acid-responsive element binding factor (ABF) และยีน master regulator of cell cycle entry and proliferative metabolism (MYC) ที่ถูกกระตุ้นให้เริ่มทำงานโดย ABA และ JA ซึ่งเป็นฮอร์โมนตอบสนองต่อความเครียดที่สำคัญในพืช จากนั้น transcription factor จะทำหน้าที่กระตุ้นการแสดงออกของยีนที่ถูกชักนำในช่วงปลาย นอกจาก ABF และ MYC แล้วยังมี transcription factor ชนิดอื่น ๆ ด้วย เช่น ยีน *apetala2/ethylene responsive factor (AP2/ERF)*, ยีน *myeloblastosis (MYB)* และยีน *WRKY* (Yoon et al., 2020) ส่วนยีนที่ถูกชักนำในช่วงปลายจะแสดงออกอย่างช้า ๆ ภายใต้สภาวะเครียด กล่าวคือแสดงออกหลังจากได้รับสัญญาณความเครียดแล้วเป็นระยะเวลาหลายชั่วโมง และการแสดงออกของยีนจะคงอยู่อย่างต่อเนื่อง ได้แก่ ยีนที่แปลรหัสเป็นโพลีเปปไทด์ (polypeptide) ที่มีคุณสมบัติเข้ากับน้ำได้ดี ยีนที่แปลรหัสเป็นโปรตีนที่ช่วยรักษาเสถียรภาพของเนื้อเยื่อ เช่น ยีน *cold responsive (COR)* และยีน *late embryogenesis abundant (LEA)* เป็นต้น (Kasuga et al., 1999)

ความเครียดจากความร้อน

ความเครียดจากความร้อน หมายถึงระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้นที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของพืชแบบไม่สามารถย้อนกลับได้ ความเครียดจากความร้อนเกิดได้ 3 กรณี ดังนี้ (1) อุณหภูมิสูงสุดที่ไต่ระดับถึงหรือความเข้มข้น (intensity) (2) ความถี่ของเหตุการณ์ที่เกิดขึ้น (frequency) และ (3) ระยะเวลาที่เหตุการณ์นั้นเกิดขึ้น (duration) ความเครียดจากความร้อนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมีในพืช

อุณหภูมิสูงส่งผลโดยตรงต่อการเสื่อมสภาพและการรวมตัวของโปรตีน (aggregation) รวมถึงการไหลเวียนของไขมันเมมเบรน (membrane lipid) ที่เพิ่มขึ้น สำหรับผลทางอ้อมจะเกี่ยวข้องกับการหยุดทำงานของเอนไซม์ในคลอโรพลาสต์และไมโทคอนเดรีย การย่อยสลายของโปรตีน การยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน และการสูญเสียความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ (loss of membrane integrity) ในที่สุดนำไปสู่สภาพการขาดสารอาหาร การยับยั้งการเจริญเติบโต การไหลของไอออนที่ลดลง การผลิตสารประกอบที่เป็นพิษและ ROS (Wahid et al., 2007) การเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ดังกล่าวส่งผลกระทบไปถึงการเจริญเติบโตของพืช ตลอดจนผลผลิตและคุณภาพที่ลดลง Yang et al. (2018) รายงานว่า ในข้าวสาลี ข้าว และข้าวโพด เมื่อพืชเผชิญความเครียดจากความร้อนในช่วงการเติมเมล็ด (grain filling) พบว่า การสะสมของแป้งลดลงอย่างเห็นได้ชัด ระดับของน้ำตาลในข้าวโพด เช่น ฟรุคโตส (fructose) และเฮกโซส (hexose) ก็ลดลงเช่นกัน นอกจากนี้ Li et al. (2018) รายงานว่า เมื่อถั่วเหลืองเผชิญความเครียดของอุณหภูมิและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระและความเข้มข้นของโปรตีนโดยรวมลดลง ในขณะที่ความเข้มข้นของน้ำมันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

ความทนทานต่อความเครียดต่าง ๆ เป็นลักษณะเชิงปริมาณที่มียีนหลายยีนเกี่ยวข้อง การปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มความทนทานต่อความเครียดจากความร้อนมีการดำเนินการในข้าว ตำแหน่งที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative trait loci, QTL) ตัวหลักที่สัมพันธ์กับความทนทานต่อความร้อนถูกระบุและโคลนได้สำเร็จในข้าวแอฟริกา (*Oryza glaberrima* Steud.) โดยพบว่า เป็นยีนที่แปลรหัสเป็นโปรตีนหน่วยย่อย $\alpha 2$ ของ 26S proteasome ที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของโปรตีน (Li et al., 2015) ในข้าวพันธุ์ Kokoromachi ของประเทศญี่ปุ่น Shirasawa et al. (2013) ระบุ

QTL ที่สัมพันธ์กับความทนทานต่อความร้อนในช่วงการเติมเมล็ด โดยอยู่ใกล้กับเครื่องหมายดีเอ็นเอ *ktIndel001* และ *RFT1* ที่ใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ทนร้อน นอกจากนี้ Waghmare *et al.* (2018) ระบุเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดเอสเอสอาร์ (simple sequence repeat, SSR) จำนวน 41 เครื่องหมาย ที่ให้ความแตกต่างระหว่างข้าวพันธุ์ N22 ที่ทนทานต่อความร้อนกับพันธุ์ Uma ที่ให้ผลผลิตสูงแต่อ่อนแอต่อความร้อน สำหรับนำเครื่องหมายดังกล่าวไปใช้ในการคัดเลือกและพัฒนาข้าวพันธุ์ใหม่ของประเทศไทยเดียวที่ให้ผลผลิตสูงและทนทานต่อความร้อน

ความเครียดจากความเค็ม

ปริมาณเกลือแร่ที่ละลายในน้ำและดินเป็นสาเหตุของปัญหาความเค็ม เกลือเหล่านี้ประกอบด้วยอิเล็คโตรไลต์ของไอออนลบ (ส่วนใหญ่ คือ CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , HCO_3^-) และไอออนบวก (ส่วนใหญ่ คือ Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Na^+) เกลือที่ละลายน้ำได้จะสะสมอยู่ที่ชั้นบนของดินและส่งผลกระทบต่อผลผลิตทางการเกษตรของพื้นที่นั้น กลไกการทนทานต่อความเค็มสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก ได้แก่ ประเภทที่ 1 การป้องกันหรือลดปริมาณเกลือที่เนื้อเยื่อพืชดูดซึม และประเภทที่ 2 การลดความเข้มข้นของเกลือที่มีอยู่ในไซโตพลาสซึม กลไกทั้งสองประเภทนี้พบได้ในฮาโลไฟต์ (halophyte) หรือพืชที่ทนต่อความเค็ม เช่น cordgrass (*Spartina alterniflora* Loisel.) และ saltgrass (*Distichlis spicata* (L.) Greene) ซึ่งสามารถขับเกลือออกจากเซลล์และสามารถแยกเกลือส่วนเกินไปเก็บไว้ในแวคิวโอลของเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย ทำให้ฮาโลไฟต์สามารถเติบโตในดินเค็มได้ดีกว่า และอยู่ได้ในระยะเวลายาวนานกว่าไกลโคไฟต์ (glycophyte) ที่เป็นพืชส่วนใหญ่ซึ่งอ่อนแอต่อความเค็ม

การศึกษากการแสดงออกของยีนภายใต้สภาวะความเครียดจากความเค็ม พบยีนที่มีการ

แสดงออกเปลี่ยนแปลงไป สามารถแบ่งกลุ่มตามหน้าที่ของยีน ได้เป็น 5 กลุ่มหลัก ดังนี้ (1) ตัวรับรู้ความเครียด (stress sensor) เช่น ยีน *Ca sensor kinase* ยีน *protein kinase* (2) ตัวควบคุมความสมดุลของไอออน (ion balance regulator) เช่น ยีน *Na transporter* ยีน *Transferase* (3) ตัวควบคุม ROS (ROS regulator) เช่น ยีน *ROS scavenger* ยีน *Redox enzyme* (4) ตัวปกป้องเซลล์ (cell protector) เช่น ยีน *Proline synthesis* ยีน *Polyamine biosynthesis* (5) ตัวควบคุมความชราภาพ (senescence regulator) เช่น ยีน *Protease* ยีน *Nitrogen remobilization* (Soltabayeva *et al.* , 2021) การแสดงออกของยีนจากกลุ่มหน้าที่ที่แตกต่างกันเหล่านี้ทำให้ทราบถึงกลไกของพืชในการตอบสนองต่อความเครียดจากความเค็ม

QTL ที่สัมพันธ์กับความทนทานต่อความเค็มได้รับการศึกษาในข้าวและพบว่า saltol เป็น QTL หลักที่ควบคุมลักษณะดังกล่าว มีตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 1 ของจีโนมข้าว เมื่อทำการโคลนบริเวณ saltol พบยีนที่เกี่ยวข้องกับการดูดซึมของไอออน (De Leon *et al.* , 2015) เครื่องหมายที่ใช้ในการคัดเลือกยีน *saltol* ได้แก่ เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด SSR ชื่อ RM493 และ RM3412b นอกจากนี้ พบว่า QTL ชื่อ SKC1 มีความสัมพันธ์กับความทนทานต่อความเค็มของข้าว มีตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 1 เช่นกัน โดย QTL นี้ พบยีน sodium transporter ที่ทำหน้าที่ขนส่ง Na^+ ออกจากท่อลำเลียงน้ำ (Ren *et al.* , 2005)

สำหรับการศึกษาวิจัยในถั่วเหลือง QTL หลักที่ควบคุมลักษณะความทนทานต่อความเค็มถูกระบุบนโครโมโซมที่ 3 (Tuyen *et al.* , 2010) โดยพบยีน *Glyma03g32900* หรือ *GmSALT3* ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งโซเดียม (Guan *et al.* , 2014) ขณะที่ QTL รองสำหรับความทนทานต่อความเค็มถูกระบุอยู่บนโครโมโซมที่ 2, 7, 9, 11, 13, 14, 15 และ 18 (Do *et al.* , 2019)

ความเครียดจากความแห้งแล้ง

ความเครียดจากความแห้งแล้งเกิดจากการขาดน้ำของพืช เป็นสาเหตุสำคัญประการหนึ่งของการสูญเสียผลผลิตทางการเกษตร เนื่องจากน้ำมีความจำเป็นต่อกระบวนการพื้นฐานในการเจริญเติบโตของพืช Ullah (2009) รายงานว่า การลดการให้น้ำลง 40% ทำให้ผลผลิตข้าวโพดลดลงเหลือ 40% และข้าวสาลีเหลือ 21% ของผลผลิตเดิม ปัจจุบันการหาวิธีต่อสู้กับความเครียดจากความแห้งแล้งมีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากปัญหาการลดลงของปริมาณน้ำฝนและความแห้งแล้งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นซึ่งมีสาเหตุจากภาวะโลกร้อนที่ทวีความรุนแรงขึ้น

ความเครียดจากความแห้งแล้งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช ได้แก่ การลดลงของกิจกรรมการสังเคราะห์แสง การเปลี่ยนแปลงความยืดหยุ่นของผนังเซลล์ และการปิดปากใบ ภัยแล้งยังส่งผลต่อภาวะโภชนาการของพืช เนื่องจากการแพร่กระจายของธาตุอาหารจากดินเข้าสู่รากจะลดลงตามระดับความชื้น (Hu *et al.*, 2007; Younis *et al.*, 2017) พืชมีกลไกและการปรับตัวเพื่อจัดการกับความเครียดจากภาวะแล้ง เช่น การปิดปากใบ การผลิตใบเพื่อลดการสูญเสีย น้ำ ฮอโมนสำคัญที่ควบคุมการเปิดและปิดปากใบ คือ ABA เมื่อ ABA จับกับตัวรับ (receptor) จะส่งผลให้ช่องไอออนเปิด ซึ่งจะทำให้ความดัน (turgor pressure) ในปากใบลดลงและส่งผลให้ปากใบปิด Gonzalez-Villagra *et al.* (2018) รายงานว่า เมื่อพืชถูกเพาะเลี้ยงในสภาวะแห้งแล้ง พืชจะผลิต ABA มากขึ้นเพื่อพยายามเก็บรักษาน้ำที่มีอยู่ในใบในมันสำปะหลัง Wang *et al.* (2017) ทำแผนที่ความสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องกับความแห้งแล้ง โดยศึกษากับมันสำปะหลัง 134 สายพันธุ์ และใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด EST-SSR พบตำแหน่งบนโครโมโซม จำนวน 13 ตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับความทนทานต่อความแห้งแล้ง

มีการศึกษาวิเคราะห์ QTL ที่สัมพันธ์กับการทนแล้งจำนวนมากในพืชตระกูลถั่ว ในถั่วชิกพี Hamwieh *et al.* (2013) ระบุ 12 QTL (NCP-GR-50, TR-50, SCEA19, TAA-58, H6C-07, H5E-02, H5G-01, H6C-07, H1B-04, TA-113, H6C-07 และ H1F-21) เกี่ยวข้องกับการทนแล้งระยะต้นกล้า ในถั่วพุ่ม Muchero *et al.* (2009) รายงาน 7 เครื่องหมายดีเอ็นเอ ACC-3, VuPAT1-2, CPRD8-1, CPRD14-2, CPRD14-3, CPRD22-2, CPRD22-4 ที่เชื่อมโยงกับ QTL ของลักษณะการทนแล้ง Dro-1, Dro-2, Dro-3, Dro-3, Dro-4, Dro-5 และ Dro-5 ตามลำดับ ในถั่วแขก Briez *et al.* (2017) พบ 22 QTL ที่เกี่ยวข้องกับการชีวมวลสดของใบและลำต้น (leaf and stem fresh biomass) คลอโรฟิลล์ อุณหภูมิใบ ชีวมวลแห้งของใบ วันที่ออกดอก จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักฝักแห้ง จำนวนเมล็ดต่อต้น น้ำหนักเมล็ด และผลผลิตรวมภายใต้ความเครียดจากความแห้งแล้ง ในถั่วเหลือง พบ 4 QTL ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตภายใต้ความเครียดจากความแห้งแล้ง โดยอยู่ใกล้กับเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด SSR ชื่อ Satt226, Sat_375, Sat_074 และ Satt205-Satt489 (Manavalan *et al.*, 2009) นอกจากนี้ Carpentieri-Pipolo *et al.* (2011) ระบุเพิ่มเติมอีก 4 QTL ได้แก่ qSV_Gm03, qSV_Gm05, qSV_Gm10 และ qSV_Gm12 อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ QTL ส่วนใหญ่ใช้ประชากรกลุ่มเดียวและขนาดเล็กทำให้เครื่องหมาย QTL ที่ระบุได้อาจใช้ไม่ได้กับประชากรที่ไม่มีความเกี่ยวข้องทางพันธุกรรมกับพันธุ์ที่ใช้ศึกษาที่กล่าวมาแล้ว

กรณีศึกษา: การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับความทนแล้งในถั่วเหลือง

จิราพร และคณะ (2561) ทำการศึกษาความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งในระยะแรกรอกของถั่วเหลืองพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตร จำนวน 19 พันธุ์ ดำเนินการตามวิธีของ Rasaei *et al.*

(2013) โดยใช้ polyethylene glycol (PEG) เป็นสารดูดความชื้นหรือสารชักนำให้เกิดสภาพแห้งแล้งในกระดาษาเพาะ ตรวจสอบ และเก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์การงอกของถั่วเหลืองแต่ละพันธุ์หลังประสบภาวะแห้งแล้ง 5 วัน หลังปลูกโดยเปรียบเทียบระหว่างกรณีควบคุม (PEG 0%) กับสภาพแห้งแล้ง (PEG 15%) พบว่า ถั่วเหลืองแต่ละพันธุ์มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งในระยะแรกงอกแตกต่างกัน พันธุ์ที่ทนทานมากที่สุด ได้แก่ ศรีสำโรง 1 กลุ่มพันธุ์ทนทานพันธุ์อื่น ๆ เช่น เชียงใหม่ 2 เชียงใหม่ 60 และ สจ.2 เป็นต้น สำหรับพันธุ์ที่อ่อนแอมากที่สุด ได้แก่ พันธุ์เชียงใหม่ 1 กลุ่มพันธุ์อ่อนแออื่น ๆ เช่น เชียงใหม่ 5 เชียงใหม่ 6 และ เชียงใหม่ 84-2 เป็นต้น (Table 1) เมื่อวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid)

ของจีโนมถั่วเหลือง จำนวน 10 พันธุ์ โดยใช้วิธี genotyping by sequencing (GBS) พบความแตกต่างของลำดับดีเอ็นเอระหว่างพันธุ์ทนทานและพันธุ์อ่อนแอต่อสภาพแห้งแล้ง โดยเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดซิมป์ (single-nucleotide polymorphism, SNP) ในยีน *Dehydratase (DHT)* และ ยีน *Peroxisome Assembly Protein (PXS)* ที่มีความสัมพันธ์กับความทนทานต่อสภาพแห้งแล้ง (จิราพร และคณะ, 2565) ยีน *Dehydratase* มีบทบาทในการสังเคราะห์กรดอะมิโนชนิดฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) และการผลิตฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) ที่ทำหน้าที่ในระบบการป้องกันจากสภาวะเครียด (Warpeha et al., 2006) สำหรับยีน *Peroxisome Assembly Protein* เกี่ยวข้องกับเปอร์ออกซิโซม (peroxisome)

Table 1 Average percentage of germination rate at 5 days after planting of each DOA-registered soybean cultivars between PEG 0% and 15%

Cultivars	PEG (%)		Diff
	0	15	
Chiang Mai 1	97 bc	14 h	83 **
Chiang Mai 2	100 ab	92 ab	8 **
Chiang Mai 3	70 f	50 fg	20 **
Chiang Mai 5	98 abc	54 fg	44 **
Chiang Mai 6	100 ab	48 fg	51 **
Chiang Mai 60	73 f	63 ef	10 ns
Chiang Mai 84-2	99 ab	45 g	54 **
SJ 1	86 de	61 ef	25 **
SJ 2	93 cd	80 d	12 **
SJ 3	72 f	63 ef	9 ns
SJ 4	91 cd	74 de	17 **
SJ 5	96 bc	80 d	16 **
Sukothai 1	99 ab	91 abc	8 **
Sukothai 2	99 ab	82 cd	17 **
Sukothai 3	96 bc	73 de	23 **
Srisamrong 1	100 a	96 a	4 **
Konkaen	91 cd	83 bcd	8 ns
Utsaha-A	78 ef	64 ef	14 *
Williams	100 a	50 fg	50 **
F-Mean	91	66	25
CV (%)	8.72		

** = significant at 1% level, * = significant at 5% level, ns = not significant

Means in a column, followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Source: จิราพร และคณะ (2561)

ซึ่งทำหน้าที่ในระบบกำจัด ROS (Hinojosa *et al.*, 2019) ผลการวิเคราะห์ความถูกต้องของเครื่องหมาย ดีเอ็นเอ DHT และ PXS ในการคัดเลือกพันธุ์ ทนทานต่อสภาพแห้งแล้งในถั่วเหลือง จำนวน 19 พันธุ์ (Figure 2, 3) พบว่า เครื่องหมายดีเอ็นเอ DHT และ PXS มีความถูกต้อง 78.9% ทั้งสอง เครื่องหมาย (จิราพร และคณะ, 2565) ซึ่งถือว่า

มีประสิทธิภาพสูงในการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งในระยะแรกออก ในพืชมันสำปะหลัง Blair *et al.* (2007) รายงานว่า เครื่องหมาย RME1 และ NS158 เป็นเครื่องมือ พยากรณ์ที่ยอดเยี่ยมสำหรับคัดเลือกลักษณะความ ต้านทานโรคใบด่าง โดยมีความถูกต้อง 70-80%

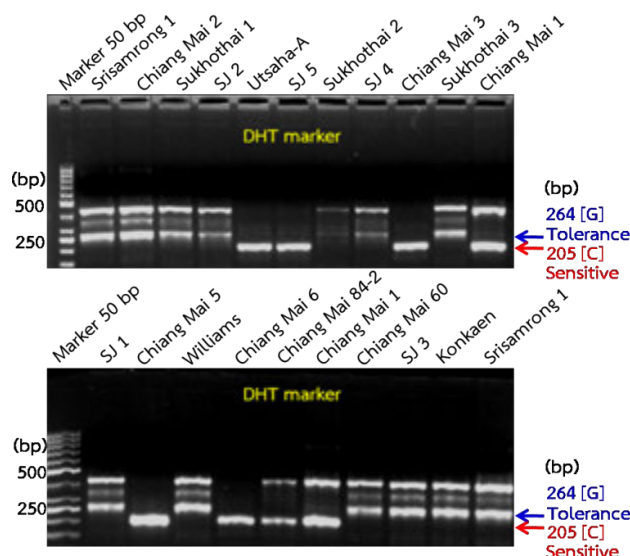


Figure 2 DNA amplification with primers of DHT marker using Tetra-Primer ARMS-PCR technique in DOA-registered soybean 19 cultivars. G allele is represented by 264-bp-band and found in drought tolerant cultivars, while C allele is represented by 205-bp-band and found in drought sensitive cultivars. Source: จิราพร และคณะ (2565)

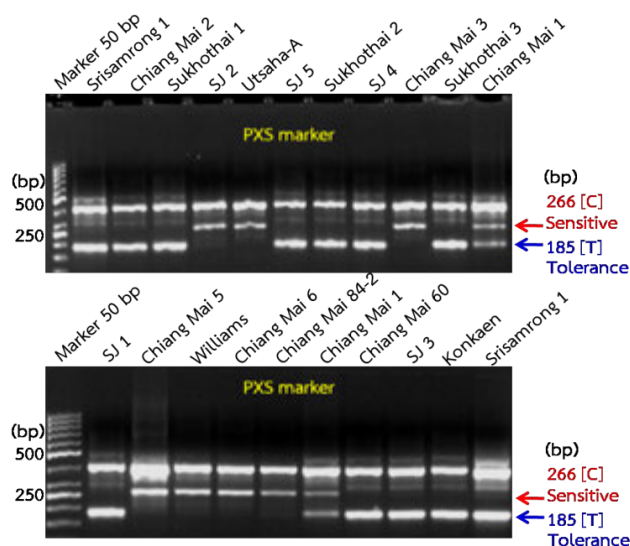


Figure 3 DNA amplification with primers of PXS marker using Tetra-Primer ARMS-PCR technique in DOA-registered soybean 19 cultivars. T allele is represented by 185-bp-band and found in drought tolerant cultivars, while C allele is represented by 266-bp-band and found in drought sensitive cultivars. Source: จิราพร และคณะ (2565)

แนวทางการใช้เทคโนโลยีเพื่อการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์พืชในอนาคต

เพื่อให้การปรับปรุงพันธุ์พืชดำเนินการได้รวดเร็ว ทันต่อสถานการณ์การเพิ่มขึ้นของประชากรโลก และรองรับปัญหาการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ นอกเหนือจากการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาช่วยในการคัดเลือกพันธุ์ที่

เรียกว่า marker-assisted selection (MAS) แล้ว ยังมีเทคโนโลยีใหม่ที่ใช้ประโยชน์จากเครื่องหมายดีเอ็นเอเช่นกัน เรียกว่า การคัดเลือกจีโนม (genomic selection, GS) ด้วย นอกจากเทคโนโลยีชีวภาพด้านเครื่องหมายดีเอ็นเอแล้ว เทคโนโลยีชีวภาพด้านพันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีโอมิกส์ (omics technology) ก็มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาพันธุ์พืชให้มีลักษณะตามต้องการ (Figure 4)

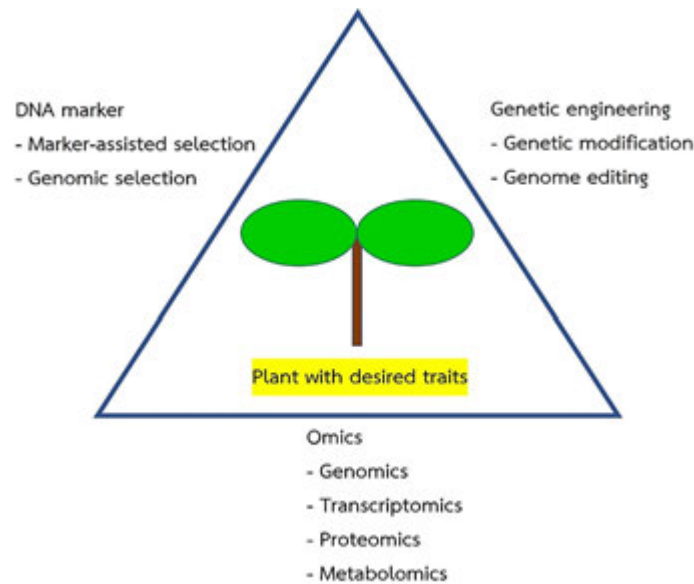


Figure 4 Trends of technology for plant selection and breeding

การคัดเลือกจีโนม เป็นวิธีการคัดเลือกพันธุ์รูปแบบใหม่ที่มีการบูรณาการเทคโนโลยีทางด้านอนุพันธุศาสตร์ร่วมกับการประเมินพันธุกรรม โดยอิงจากชุดข้อมูลเครื่องหมายดีเอ็นเอจำนวนมากที่กระจายไปทั่วจีโนมทั้งหมด แตกต่างจาก MAS ที่ใช้เครื่องหมายจำนวนน้อยตำแหน่งที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับลักษณะที่สนใจในการคัดเลือกพันธุ์ ซึ่งกรณีลักษณะเชิงปริมาณที่ซับซ้อนควบคุมโดย QTL รong จำนวนมากตำแหน่ง MAS ยังประสบความสำเร็จน้อย ดังนั้น จึงมีการคิดค้นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการคัดเลือกลักษณะเชิงปริมาณที่ซับซ้อนดังกล่าว ได้แก่ การคัดเลือกจีโนม โดยจะมีการพัฒนาแบบจำลองการทำนาย (prediction model) โดยอิงจากข้อมูลจีโนไทป์และฟีโนไทป์ของประชากรที่ใช้ในการฝึกหรือประชากรอ้างอิง (training population) สำหรับใช้เพื่อหาค่าการผสมพันธุ์จีโนม (genomic estimated breeding value, GEBV)

ในประชากรที่ผสมพันธุ์ทั้งหมด (breeding population) โดยประมวลผลจากโปรไฟล์จีโนมแต่ละต้น (Meuwissen *et al.*, 2001) GEBV ช่วยให้นักปรับปรุงพันธุ์สามารถพยากรณ์ต้นที่มีลักษณะพันธุ์ที่ดีและมีความเหมาะสมสำหรับใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์หรือสำหรับการพัฒนาพันธุ์ต่อไป

พันธุวิศวกรรม หมายถึง การเปลี่ยนแปลงโดยตรงของสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ (Christou, 2013) แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ การดัดแปลงพันธุกรรม (genetic modification) และการแก้ไขจีโนม (genome editing) ในการดัดแปลงพันธุกรรมยีนที่แปลรหัสแล้วทำให้เกิดลักษณะที่ต้องการจะถูกแทรกเข้าไปในจีโนมที่ตำแหน่งสุ่มโดยใช้วิธีการถ่ายฝากยีนลงในพืช ทำให้มีดีเอ็นเอแปลกปลอม (foreign DNA) เข้าไปในจีโนม ขณะที่การแก้ไขจีโนมจะเปลี่ยนแปลงดีเอ็นเอของพืช เช่น การลบ (deletion) การแทรก

(insertion) และการแทนที่ (replacement) ของ ดีเอ็นเอ ตามเป้าหมายที่กำหนดได้อย่างจำเพาะและมีประสิทธิภาพมากขึ้น วิธีการที่ใช้กันอย่างแพร่หลายที่สุดในการแก้ไขจีโนมในปัจจุบัน คือ clustered regularly interspaced short palindromic repeats and associated protein 9 (CRISPR-Cas9) พันธุ์พืชที่ได้จากการแก้ไขจีโนมอาจมีหรือไม่มี ดีเอ็นเอแปลกปลอมขึ้นอยู่กับประเภทของการแก้ไข ในบางประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา อาร์เจนตินา และบราซิล พืชที่ได้จากการแก้ไขจีโนมที่ไม่มี ดีเอ็นเอแปลกปลอมจะไม่สามารถอยู่ภายใต้มาตรการกำกับดูแลเพิ่มเติมที่ใช้กับพืชดัดแปลงพันธุกรรม ซึ่งหากไม่คำนึงถึงความแตกต่างในนโยบายการกำกับดูแลทั้งเทคนิคการดัดแปลงพันธุกรรมและการแก้ไขจีโนมเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืชเช่นเดียวกัน (Dong and Ronald, 2019) มีการใช้พันธุวิศวกรรมในการปรับปรุงพันธุ์พืชหลายลักษณะ เช่น ความต้านทานโรคและแมลง ความทนทานต่อสภาวะเครียด ความทนทานต่อสารกำจัดศัตรูพืช การยืดอายุการเก็บรักษา และการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ เป็นต้น

เทคโนโลยีโอไมกส์ “โอไมกส์” หมายถึง การศึกษาแบบองค์รวมของสิ่งมีชีวิตบนฐานความรู้ด้านวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ประกอบด้วย (1) จีโนมิกส์ (genomics) เป็นการศึกษาข้อมูลทางพันธุกรรมทั้งหมดจากจีโนมของสิ่งมีชีวิต (2) ทรานสคริปโตมิกส์ (transcriptomics) คือ ความรู้ในเรื่องการแสดงออกของยีนทั้งหมดซึ่งได้จากการศึกษาเอ็มอาร์เอ็นเอทั้งหมด การทำทรานสคริปโตมิกส์เปรียบเทียบภายใต้สภาวะแวดล้อมต่างๆ ช่วยให้สามารถระบุยีนที่มีความสำคัญต่อการปรับตัวของพืชได้ (3) โปรตีโอไมกส์ (proteomics) คือ ความรู้ในเรื่องการแสดงออกของยีนทั้งหมดซึ่งได้จากการศึกษาโปรตีนทั้งหมด (4) เมตาบอโลมิกส์ (metabolomics) เป็นการศึกษาความหลากหลายของเมตาโบไลต์ (สารที่เป็นผลิตภัณฑ์จาก metabolism) ในเซลล์ในขณะใดขณะหนึ่งว่ามีวิถี (pathway) และกลไกที่สัมพันธ์กันอย่างไร (Nadeem et al., 2019) กล่าวคือ เทคโนโลยีโอไมกส์ถูกนำมาใช้เพื่อค้นหายีนที่

ควบคุมลักษณะทางการเกษตรที่สนใจ ศึกษาหน้าที่ของยีนและวิถีที่เกี่ยวข้อง นำไปสู่การพัฒนาพันธุ์พืชให้มีลักษณะทางการเกษตรที่ต้องการได้

สรุป

เครื่องหมายดีเอ็นเอ พันธุวิศวกรรม และ โอไมกส์ทั้ง 3 เทคโนโลยีนี้ มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์พืช โดยเทคโนโลยีโอไมกส์ทำให้ทราบถึงข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตและยีนที่ควบคุมลักษณะทางการเกษตร ซึ่งข้อมูลดังกล่าวเป็นประโยชน์ต่อพันธุวิศวกรรม เนื่องจากให้ข้อมูลยีนเป้าหมายสำหรับดำเนินการดัดแปลงพันธุกรรมหรือแก้ไขจีโนม เพื่อพัฒนาพันธุ์พืชให้มีลักษณะที่ต้องการ นอกจากนี้ ข้อมูลจากเทคโนโลยีโอไมกส์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านจีโนมิกส์และทรานสคริปโตมิกส์ ยังเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์พืชอีกด้วย

บรรณานุกรม

- จิราพร แก่นทรัพย์ ชนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ ประสาน สืบสุข และรัชณี โสภา. 2561. การศึกษาความทนทานต่อสภาพน้ำท่วมและสภาพแห้งแล้งของถั่วเหลืองพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตรโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล. หน้า 48-51. ใน: *เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ เรื่อง งานวิจัยถั่วเหลืองสู่ความมั่นคงด้านอาหารของไทย ประจำปี 2560 ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ระหว่างวันที่ 13 -14 มีนาคม 2561.*
- จิราพร แก่นทรัพย์ อัจฉราพรณ ใจเจริญ รัชณี โสภา และ สุมณา งามพ่องใส. 2565. การพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลในยีนทนแล้งและทนน้ำท่วม Dehydrin ของถั่วเหลืองพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตร. ใน: *รายงานผลสัมฤทธิ์สำหรับโครงการปกติ ปีงบประมาณ พ.ศ.2564. สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม. 31 หน้า.*
- Blair, M.W., M.A. Fregene, S.E. Beebe and H. Ceballos. 2007. Marker-assisted selection in common beans and cassava. page 81-115. In: Guimaraes, Elcio Perptuo; Ruane, John; Scherf, Beate D.; Sonnino, Andrea; Dargie, James D. (eds.). Marker-assisted selection:

- Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and sh. Organizacin de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentacin (FAO), Rome, IT.
- Briez, B., J. Morini, K. Cardoso, J.S. Rosa, D. Bassi, J.G.R. Goncalves, C. Almeida, J.F.C. Paulino, M.W. Blair, A.F. Chioratto, S.A.M. Carbonell, P.A.M.R. Valdisser, R.P. Vianello and L.L. Benchimol-Reis. 2017. Mapping QTLs for drought tolerance in a SEA 5 × AND 277 common bean cross with SSRs and SNP markers. *Genet. Mol. Biol.* 823:813–823.
- Carpentieri-Pipolo, A.E., H.R. Boerma and T.R. Sinclair. 2011. Identification of QTLs associated with limited leaf hydraulic conductance in soybean. *Euphytica*. 186: 679–686.
- Christou, P. 2013. Plant genetic engineering and agricultural biotechnology 1983–2013. *Trends Biotechnol.* 31: 125–127.
- De Leon, T.B., S. Linscombe, G. Gregorio and P.K. Subudhi. 2015. Genetic variation in Southern USA rice genotypes for seedling salinity tolerance. *Front. Plant Sci.* 6: 374.
- Do, T.D., T.D. Vuong, D. Dunn, M. Clubb, B. Valliyodan, G. Patil, P. Chen, D. Xu, H.T. Nguyen and J.G. Shannon. 2019. Identification of new loci for salt tolerance in soybean by high-resolution genome-wide association mapping. *BMC Genomics*. 20: 318.
- Dong, O.X. and P.C. Ronald. 2019. Genetic engineering for disease resistance in plants: Recent progress and future perspectives. *Plant Physiol.* 180(1): 26–38.
- FAO. 2009. Global agriculture towards 2050. High Level Expert Forum - How to Feed the World in 2050. Rome 12–13 October 2009. 4 p.
- Guan, R.X., Y. Qu, Y. Guo, L.L. Yu, Y. Liu, J. Jiang, J. Chen, Y. Ren, G. Liu, L. Tian, L. Jin, Z. Liu, H. Hong, R. Chang, M. Gilliam and L. Qiu. 2014. Salinity tolerance in soybean is modulated by natural variation in GmSALT3. *Plant J.* 80(6): 937–950.
- Gull, A., A.A. Lone and N.U.I. Wani. 2019. Biotic and abiotic stresses in plants. In: (Ed.), Abiotic and biotic stress in plants. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85832>
- Hamwiah, A., M. Imtiaz, I. Maize and R.S. Malhotra. 2013. Multi-environment QTL analyses for drought-related traits in a recombinant inbred population of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 126:1025–1038.
- Hinojosa, L., M.N.M.E. Sanad, D.E. Jarvis, P. Steel, K. Murphy and A. Smertenko. 2019. Impact of heat and drought stress on peroxisome proliferation in quinoa. *Plant J.* 99: 1144–1158.
- Hu, Y., Z. Burucs, S.V. Tucher and U. Schmidhalter. 2007. Short term effects of drought and salinity on mineral nutrient distribution along growing leaves of maize seedlings. *Environ. Exp. Bot.* 60: 268–275.
- Kasuga, M., Q. Liu, S. Miura, K. Yamaguchi-Shinozaki and K. Shinozaki. 1999. Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nat. Biotechnol.* 17: 287–291.
- Li, X.M., D.Y. Chao, Y. Wu, X. Huang, K. Chen, et al. 2015. Natural alleles of a proteasome $\alpha 2$ subunit gene contribute to thermotolerance and adaptation of African rice. *Nat. Genet.* 47: 827–833
- Li, Y., Z. Yu, J. Jin, Q. Zhang, G. Wang, C. Liu, J. Wu, C. Wang and X. Liu. 2018. Impact of elevated CO₂ on seed quality of soybean at the fresh edible and mature stages. *Front. Plant Sci.* 9: 1413.
- Manavalan, L.P., S.K. Guttikonda, L.P. Tran and H.T. Nguyen. 2009. Physiological and molecular approaches to improve drought resistance in soybean. *Plant Cell Physiol.* 50(7): 1260 – 1276.
- Meuwissen, T.H.E., B.J. Hayes and M.E. Goddard. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*. 157: 1819–1829.

- Muchero, W., V. Je, T.J. Close and P.A. Roberts. 2009. Mapping QTL for drought stress-induced premature senescence and maturity in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) *Theor. Appl. Genet.* 118: 849–863.
- Nadeem, M., J. Li, M. Yahya, A. Sher, C. Ma, X. Wang and L. Qiu. 2019. Research progress and perspective on drought stress in legumes: a review. *Int J Mol Sci.* 20(10): 2541.
- Rasaei, B., M.E. Ghobadi, M. Khas-Amiri and M. Ghobadi. 2013. Effect of osmotic potential on germination and seedling characteristic of soybean seeds. *Intl. J. Agri. Crop Sci.* 5: 1265-1268.
- Rejeb, I., V. Pastor and B. Mauch-Mani. 2014. Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: Molecular mechanisms. *Plants.* 3: 458–475.
- Ren, Z.H., J.P. Gao, L.G. Li, X.L. Cai, W. Huang, D.Y. Chao, M.Z. Zhu, Z.Y. Wang, S. Luan and H.X. Lin. 2005. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nat. Genet.* 37: 1141–1146.
- Shirasawa, K., T. Sekii, Y. Ogihara, T. Yamada, S. Shirasawa, S. Kishitani, K. Sasaki, M. Nishimura, K. Nagano and T. Nishio. 2013. Identification of the chromosomal region responsible for high-temperature stress tolerance during the grain filling period in rice. *Mol. Breed.* 32:223-232.
- Soltabayeva, A.; A. Ongaltay, J.O. Omondi and S. Srivastava. 2021. Morphological, physiological and molecular markers for salt-stressed plants. *Plants.* 10: 243.
- Tuyen, D., S. Lal and D. Xu. 2010. Identification of a major QTL allele from wild soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) for increasing alkaline salt tolerance in soybean. *Theor. Appl. Genet.* 121: 229–236.
- Ullah, I. 2009. *Molecular Genetic Studies for Drought Tolerance in Cotton*. Ph.D. Thesis, Quaid-i-Azam University, Islamabad, Pakistan.
- Waghmare, S.G., P. Sindhumole, M.R. Shylaja, D. Mathew, R.M. Francies, P.S. Abida and S. Sajini. 2018. Analysis of simple sequence repeat (SSR) polymorphism between N22 and Uma rice varieties for marker assisted selection. *Electron. J. Plant Breed.* 9(2): 511-517.
- Wahid, A., S. Gelani, M. Ashraf and M.R. Foolad. 2007. Heat tolerance in plants: an overview. *Environ. Exp. Bot.* 61: 199–223.
- Wang, B., X. Guo, P. Zhao, M. Ruan, X. Yu, L. Zou, Y. Yang, X. Li, D. Deng, J. Xiao, Y. Xiao, C. Hu, X. Wang, X. Wang, W. Wang and M. Peng. 2017. Molecular diversity analysis, drought related marker-traits association mapping and discovery of excellent alleles for 100-day old plants by EST-SSRs in cassava germplasms (*Manihot esculenta* Crantz.). *PLoS ONE.* 12: e0177456.
- Warpeha, K.M., S.S. Lateef, Y. Lapik, M. Anderson, B.S. Lee and L.S. Kaufman. 2006. G-protein-coupled receptor 1, G-protein Ga-subunit 1, and prephenate dehydratase 1 are required for blue light-induced production of phenylalanine in etiolated Arabidopsis. *Plant Physiol.* 140: 844–855.
- Yang, H., X. Gu, M. Ding, W. Lu and D. Lu. 2018. Heat stress during grain filling affects activities of enzymes involved in grain protein and starch synthesis in waxy maize. *Sci. Rep.* 8: 15665.
- Yoon, Y., D.H. Seo, H. Shin, H.J. Kim, C.M. Kim, *et al.* 2020. The role of stress-responsive transcription factors in modulating abiotic stress tolerance in plants. *Agronomy* 10: 788.
- Younis, A. A. Riaz, M. Qasim, F. Mansoor, F. Zulqar, F. Zulqar, U. Tariq, M. Ahsan, M.K. Naseem and Z.M. Bhatti. 2017. Screening of marigold (*Tagetes erecta* L.) cultivars for drought stress based on vegetative and physiological characteristics. *Int. J. Food Allied Sci.* 3: 56–63.
- Younis, A., F. Ramzan, Y. Ramzan, F. Zulqar, M. Ahsan and K.B. Lim. 2020. Molecular markers improve abiotic stress tolerance in crops: a review. *Plants (Basel).* 9(10): 1374.