

ผลของการขาดน้ำต่อการเปลี่ยนแปลงสถานะของน้ำในใบข้าวชาวดอกมะลิ 105 ที่โครโมโซม 9 บางส่วนถูก
แทนที่ด้วยยีนทนแล้ง

**Effects of Water Stress on Leaf Water Status of Chromosome Segment Substitution Lines (CSSL) of
KDML 105 Rice**

ปรียานุช ลาขุนทด (Preeyanuch Larkunthod)* ดร.ปิยะดา ธีระกุลพิศุทธิ์ (Dr.Piyada Theerakulpisit)**
ดร.จิรวัดน์ สนิทชน (Dr.Jirawat Sanitchon)*** ดร.โจนาลิซา แอล เซียงหลิว (Dr.Jonaliza L. Siangliw)****

บทคัดย่อ

ศึกษาค่าศักย์ของน้ำ (LWP) ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (RWC) ศักย์ออสโมซิส (OP) และค่าคะแนนการม้วนใบ (RS) ของข้าวจำนวน 4 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นสายพันธุ์ข้าวชาวดอกมะลิ 105 ที่ได้รับการแทนที่บางส่วนจากโครโมโซม (chromosome segment substitution line; CSSL) ที่ 9 จากข้าวทนแล้งพันธุ์ DH212 เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่จำนวน 2 สายพันธุ์ (KDML105 และ DH212) ปลูกข้าวลงในท่อ PVC ขนาด 20 × 100 เซนติเมตร จนข้าวอายุ 30 วัน จึงแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสภาวะขาดน้ำ โดยรดให้น้ำ เป็นเวลา 20 และ 40 วัน เก็บตัวอย่างใบข้าวในเวลาเที่ยงวัน (midday) ระหว่างเวลา 12.00-14.00 น. พบว่าข้าวกลุ่มที่ได้รับสภาวะขาดน้ำค่าศักย์ของน้ำ และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ มีค่าลดลง ส่วนค่าคะแนนการม้วนใบมีค่าเพิ่มขึ้นทุกสายพันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยค่าศักย์ของน้ำมีความสัมพันธ์แบบสหสัมพันธ์เชิงลบกับค่าคะแนนการม้วนใบ แต่มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ และศักย์ออสโมซิส และพบว่าสายพันธุ์ CSSL17 สามารถรักษาสถานะของน้ำได้ดีกว่าสายพันธุ์ CSSL อื่นๆ และพันธุ์พ่อแม่

ABSTRACT

Changes in leaf water potential (LWP), relative water content (RWC), osmotic potential (OP) and leaf rolling score (RS) of four KDML105 chromosome segment substitution lines (CSSL17, CSSL18, CSSL19 and CSSL20) carrying QTL segments of chromosome 9 from drought-tolerant donors (DH212) under drought stress were investigated in comparison with two parents (KDML105 and DH212). Plants were grown in pots made from PVC pipes (20 cm. diameter × 100 cm. height) until 30-days-old, after which the plants were divided into two groups, control (well watered) and drought stress (by withholding water). Twenty and forty days after water stress leaf samples were collected at midday (12.00-14.00) for the determination of LWP, RWC, OP and RS. The result showed that drought stress resulted in the reduction of LWP, RWC and OP an increase in RS compared with the control. LWP were negatively correlated with leaf rolling scores but positively correlated with RWC and OP. The CSSL17 was better than the other 3 CSSLs and both parents in the ability to maintain high leaf water status under the condition of drought stress.

คำสำคัญ: สภาวะขาดน้ำ ศักย์ของน้ำ ปริมาณน้ำสัมพัทธ์

Key Words: Water stress, Water potential, Relative water content

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*** อาจารย์ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

**** นักวิจัย หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว ศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

บทนำ

ข้าวขาวดอกมะลิ 105 นิยมปลูกในประเทศไทย เนื่องจากมีคุณลักษณะอันโดดเด่นคือ มีกลิ่นหอมชวนให้รับประทานไม่เหมือนพันธุ์ข้าวใดในโลก และกำลังเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคข้าวทั่วโลกในชื่อ Jasmine Rice การเพาะปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในประเทศไทยยังคงอาศัยน้ำฝนเป็นหลัก พื้นที่เพาะปลูกข้าวหลายแห่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ซึ่งในแต่ละปีมักจะประสบปัญหาความไม่แน่นอนของปริมาณและการกระจายตัวของฝน ลักษณะดินส่วนใหญ่เป็นดินทรายมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ เมื่อเกิดฝนทิ้งช่วงจะทำให้ระดับน้ำหรือความชื้นในดินไม่เพียงพอต่อความต้องการของข้าว จึงเกิดสภาพแล้ง (drought stress) จากการศึกษาของ Jongdee et al. (2002) รายงานว่าสภาพแห้งแล้งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยส่งผลกระทบต่อผลผลิตของข้าวลดลงในแต่ละปีประมาณ 13-35%

ดังนั้น หน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (Rice Gene Discovery Center, BIOTEC) ได้ทำการปรับปรุงพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ทนแล้ง ทำการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโดยการย้ายชิ้นส่วน QTL ควบคุมลักษณะทนแล้งบนโครโมโซมที่ 9 จากพันธุ์ข้าวทนแล้งพันธุ์ DH212 สายพันธุ์ที่พัฒนาขึ้นมานี้มีพื้นฐานพันธุกรรมคล้ายคลึงกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 (chromosome segment substitution lines; CSSL) (Kanjoo, 2011) ซึ่งแต่ละสายพันธุ์ของ CSSL จะมียีนทนแล้งที่มาจาก double haploid line จากพันธุ์ทนแล้ง (DH212) สายพันธุ์ดังกล่าวจำเป็นต้องมีการศึกษาลักษณะต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้งภายใต้สภาพแปลงนาและโรงเรือน ซึ่งผลที่ได้จะสามารถสืบหาและพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุลที่มีหน้าที่เฉพาะเพื่อใช้ในการรวมยีนทนแล้งในฐานพันธุกรรมของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ต่อไปในอนาคต (โจนาลีซา และคณะ, 2555)

กระบวนการตอบสนองต่อสภาวะขาดน้ำอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับระดับความรุนแรงและช่วงเวลาของการขาดน้ำหรือช่วงอายุของพืช การตอบสนองของพืชเมื่อได้รับสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเป็นผลมาจากการพยายามปรับตัวเพื่อให้สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ นอกจากนี้พืชยังมีการสะสมตัวถูกละลายที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ เช่น โพรลีน น้ำตาล น้ำตาลแอลกอฮอล์ โกลซีนบีเทนเพิ่มสูงขึ้น (Mahajan and Tuteja, 2005) การสะสมตัวถูกละลายเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการรักษาค่าศักย์ภายในเซลล์ให้ต่ำกว่าภายนอกเซลล์ ทำให้เซลล์พืชไม่สูญเสียน้ำออกจากเซลล์ และรักษาแรงดันเต่งของเซลล์ให้อยู่ในสภาวะปกติได้ กระบวนการนี้เรียกว่า osmotic adjustment ซึ่งเป็นกลไกสำคัญต่อการทนแล้งของพืช

ในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวทนแล้งมีหลายวิธี อย่างไรก็ตามการคัดเลือกพันธุ์ข้าวทนแล้งมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาและทำความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการปรับตัวและลักษณะบางประการที่เกี่ยวข้องกับการทนแล้งที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าว เพื่อจะช่วยให้การคัดเลือกข้าวทนแล้งเป็นไปได้อย่างแม่นยำยิ่งขึ้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาการเปลี่ยนแปลงสถานะของน้ำในใบข้าวเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ข้าวอันจะนำไปสู่การเพิ่มผลผลิตข้าวของประเทศต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงสถานะของน้ำในใบข้าวของประชากรข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้รับการแทนที่บางส่วนจากโครโมโซม (CSSL) ที่ 9 จากข้าวพันธุ์ทนแล้งในสภาวะขาดน้ำ

วิธีการวิจัย

สายพันธุ์ข้าวที่ใช้ศึกษาประกอบด้วยสายพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่บางส่วนจากโครโมโซมที่ 9 ได้รับการแทนที่โดยชิ้นส่วนของโครโมโซมที่ 9 จากข้าวทนแล้งพันธุ์ DH212 ซึ่งเป็นชิ้นส่วนที่กล่าวว่ามี

ยีนทนแล้งอยู่ (drought-tolerant QTL) จำนวนทั้งหมด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ CSSL 17, CSSL 18, CSSL 19 และ CSSL 20 ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้มีพื้นฐานทางพันธุกรรมคล้ายคลึงกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 ถึงร้อยละ 96 นำมาศึกษาเปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่จำนวน 2 สายพันธุ์ (KDML105 และ DH212) เมล็ดพันธุ์ทั้งหมดได้รับความอนุเคราะห์มาจาก ดร. ชिरุทศ ตูจินดา หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

ทำการปลูกข้าวภายใต้สภาพโรงเรือนที่หมวดพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงธันวาคม พ.ศ. 2556 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 6 ซ้ำ โดยนำเมล็ดพันธุ์ข้าว มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 5% นาน 15 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่นจำนวน 3 ครั้ง ข้ายมวางในจานเพาะเมล็ดที่ภายในประกอบด้วยกระดาษเพาะเมล็ดที่เติมน้ำกลั่น เมื่อข้าวเริ่มงอกอายุ 2 วัน จากนั้นทำการย้ายข้าวมาปลูกลงในท่อพีวีซีขนาด 20 × 100 เซนติเมตร ที่บรรจุดินหนัก 40 กิโลกรัม โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ได้รับน้ำปกติ และกลุ่มที่ได้รับสภาพขาดน้ำในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (เมื่อข้าวอายุครบ 30 วัน งดให้น้ำ) และทำการเก็บข้อมูลหลังจากงดน้ำเป็นเวลา 20 และ 40 วัน

การวิเคราะห์ผลการศึกษา

การวัดระดับคะแนนการม้วนของใบ (Leaf rolling score; RS)

บันทึกคะแนนการม้วนของใบตามวิธีของ

O'Toole and Moya (1978) ดังภาพที่ 1

- 0 = ไม่แสดงอาการ
- 1 = ขอบใบโค้งเข้าหากันเล็กน้อย
- 2 = ขอบใบโค้งเข้าหากันมากขึ้น
- 3 = ขอบใบโค้งเข้าหากันเป็นรูปครึ่งวงกลม

- 4 = ขอบใบโค้งเข้าจนเกือบชิดกัน
- 5 = ขอบใบโค้งเข้าจนชิดกัน



ภาพที่ 1 ลักษณะการม้วนของใบข้าวที่ตอบสนองต่อการขาดน้ำ

การวัดค่าศักย์ของน้ำในใบ (Leaf water potential; LWP)

ศักย์ของน้ำในใบจะทำการวัดในพื้นที่ปลูก โดยจะเลือกใบที่แผ่ขยายเต็มที่ สายพันธุ์ละ 2 ใบ ทำการวัดค่าศักย์ของน้ำในใบก่อนงดให้น้ำและหลังจากงดให้น้ำเป็นเวลา 20 และ 40 วัน ทำการวัดในเวลาเที่ยงวัน (midday) ระหว่างเวลา 12.00-14.00 น. ตัดใบข้าวยาวประมาณ 5-8 เซนติเมตร นำไปวัดภายใต้ความดันที่ทำให้หยดน้ำหยดแรกออกจากใบข้าวโดยใช้เครื่อง Pressure Chamber (Model 3005, Soil moisture Equipment Corporation, USA) ตามวิธีการของ Turner (1981)

การวัดค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (Relative water content; RWC)

ทำการชั่งน้ำหนักสด (fresh weight; FW) ของชิ้นส่วนใบใบเดียวกับที่ใช้วัดค่าศักย์ของน้ำ โดยนำชิ้นส่วนใบขนาดยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร ใส่ลงในหลอดไมโครทิวบีปิดให้สนิทและทำการชั่งน้ำหนักสดอย่างรวดเร็วแล้วจึงย้ายชิ้นส่วนใบไปใส่ในจานพลาสติก (plastic petri dish) ที่มีน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาณ 10 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วนำไปวางให้ได้รับแสงจากแสงหลอดฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อให้ใบข้าวดูดน้ำอย่างเต็มที่จากนั้นใช้ปากคีบคีบชิ้นส่วนใบวางลงบนกระดาษทิชชูเพื่อซับน้ำที่ผิวใบออก แล้วนำชิ้นส่วนใบใส่ลงในหลอดไมโครทิวบีเดิมเพื่อนำไปชั่งน้ำหนักเต่ง (turgid weight; TW) จากนั้นนำชิ้นส่วนใบไปอบให้แห้งในตู้อบเป่าลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้ว

นำไปชั่งหาน้ำหนักแห้ง (dry weight; DW) คำนวณหา ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (RWC) จากสูตร

$$\%RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$$

การวัดค่าศักย์ออสโมซิส (Osmotic potential; OP)

ทำการเก็บตัวอย่างหลังค้ำให้น้ำเป็นเวลา 20 และ 40 วัน ในการเก็บตัวอย่างจะเก็บช่วงเที่ยงวัน (midday) โดยใช้ใบเดียวกับที่ใช้สำหรับการวัดค่าศักย์ของน้ำในใบ และปริมาณน้ำสัมพัทธ์ โดยนำใบที่เหลือทั้งหมดใส่ถุงซิปล็อคในโตรเจนเหลว เก็บไว้ในตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอนำไปวัดค่า เมื่อจะทำการวัดนำตัวอย่างใบออกจากตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนใบอ่อนตัว (thawed) จากนั้นทำการสกัดของเหลวออกจากใบ โดยใส่ใบลงในกระบอกฉีดขนาด 1 มิลลิลิตร แล้วใช้แกนยางกดใบจนได้ของเหลว (leaf sap) ออกมา คัดของเหลวปริมาตร 10 ไมโครลิตร และลงบนกระดาษกรองวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร นำไปวัดค่าความเข้มข้นของตัวถูกละลาย (osmolality) โดยใช้เครื่อง osmometer (ยี่ห้อ Wescor รุ่น 5520) คำนวณหา ค่าศักย์ออสโมซิส (OP) ของใบจากสูตร

$$OP = -RTc$$

โดย OP = ศักย์ออสโมซิส (osmotic potential) มีหน่วยเป็น เมกะพาสคาล (MPa)

$$RT = 2.486 \text{ kg MPa mol}^{-1} \text{ ที่ } 25 \text{ องศาเซลเซียส}$$

$$c = \text{osmolality มีหน่วยเป็น mol kg}^{-1}$$

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มทดลอง Factorial in completely randomized design (CRD) จำนวน 6 ซ้ำ (n = 6) วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว One-way ANOVA โดยใช้โปรแกรมสถิติ SPSS

ผลการวิจัย

ระดับคะแนนการม้วนของใบ

ให้คะแนนการม้วนของใบ เมื่อข้าวได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 40 วัน ข้าวมีการตอบสนองโดยแสดงอาการม้วนของใบ ซึ่งอาการเหี่ยวหรือม้วนใบจะแสดงอาการชัดเจนในช่วงบ่ายที่มีแสงแดดมาก พบว่า ในสายพันธุ์ CSSL20 มีค่าคะแนนการม้วนของใบต่ำที่สุดเท่ากับ 2.66 คะแนน ส่วนในสายพันธุ์ CSSL18 มีค่าคะแนนการม้วนของใบสูงที่สุดคือมีใบม้วนมากเท่ากับ 3.33 คะแนน ส่วนในสายพันธุ์พ่อแม่ สายพันธุ์ DH212 มีค่าคะแนนการม้วนของใบเท่ากับ 4.33 คะแนน ในขณะที่สายพันธุ์ KDML105 มีค่าเท่ากับ 3.33 คะแนน

ตารางที่ 1 ค่าคะแนนการม้วนของใบข้าวเมื่อได้รับสภาพแล้งเป็นเวลา 40 วัน (mean±SE)

สายพันธุ์	ค่าคะแนนการม้วนของใบ
CSSL17	3.00 ± 0.00a,b
CSSL18	3.33 ± 0.33a,b
CSSL19	3.00 ± 0.57a,b
CSSL20	2.66 ± 0.33a
KDML105	3.33 ± 0.33a,b
DH212	4.33 ± 0.66b
MEANS	3.28
%CV	1.64
F-test	ns

ค่าศักย์ของน้ำในใบ

จากการวัดค่าศักย์ของน้ำในใบเมื่อข้าวได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 20 และ 40 วัน พบว่าข้าวทุกสายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ P<0.05 โดยที่กลุ่มข้าวที่ได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 40 วัน ในกลุ่มควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง -1.44 ถึง -2.10 MPa ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับสภาพขาดน้ำมีค่าศักย์ของน้ำในใบอยู่ระหว่าง -1.83 ถึง -2.96 MPa จะเห็นว่าในกลุ่มควบคุมมีค่าศักย์ของน้ำสูงกว่า (ติดลบน้อยกว่า) กลุ่มที่ได้รับ

สภาพขาดน้ำ และพบว่าสายพันธุ์ CSSL17 มีค่าศักย์ของน้ำลดลงจากกลุ่มควบคุมน้อยที่สุดคือ 7.87% ในขณะที่สายพันธุ์ CSSL18 มีค่าศักย์ของน้ำลดลงจากกลุ่มควบคุมมากที่สุด คือ 26.89% ส่วนในพันธุ์พ่อแม่ จะเห็นว่าพันธุ์ DH212 จะมีค่าศักย์ของน้ำลดลงจากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 46.67% ในขณะที่พันธุ์ KDML105 มีค่าลดลงจากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 38.58% (ตารางที่ 2)

ค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์

จากการวัดปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบเมื่อข้าวอยู่ในสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 20 และ 40 วัน พบว่าข้าวทุกสายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ $P < 0.05$ โดยที่กลุ่มข้าวที่ได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 40 วัน ในกลุ่มควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 80.64 ถึง 99.99 % ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับสภาพแล้งมีค่าอยู่ระหว่าง 75.16 ถึง 92.17 % และพบว่าสายพันธุ์ CSSL17 มีค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ลดลงจากกลุ่มควบคุมน้อยที่สุดคือ 0.93 % ในขณะที่สายพันธุ์ CSSL18 มีค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ลดลงจากกลุ่มควบคุมมากที่สุดเท่ากับ 5.32 % ส่วนในสายพันธุ์พ่อแม่ พบว่า พันธุ์ DH212 มีค่า

ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ลดลงจากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 7.21 % ส่วนในพันธุ์ KDML105 มีค่าลดลงจากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 4.26 % (ตารางที่ 3)

ค่าศักย์ออสโมซิส

จากการวัดค่าศักย์ออสโมซิสในใบเมื่อข้าวอยู่ในสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 20 และ 40 วัน พบว่าข้าวทุกสายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ $P < 0.05$ โดยกลุ่มข้าวที่ได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 40 วัน ในกลุ่มควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง -2.34 ถึง -3.33 MPa ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับสภาพขาดน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง -3.08 ถึง -4.42 MPa และพบว่าสายพันธุ์ CSSL17 มีค่าศักย์ออสโมซิสลดลงจากกลุ่มควบคุมน้อยที่สุดคือ 20.70 % ในขณะที่สายพันธุ์ CSSL18 มีค่าศักย์ออสโมซิสลดลงจากกลุ่มควบคุมมากที่สุดเท่ากับ 43.18 % ส่วนในพันธุ์พ่อแม่ พบว่าพันธุ์ DH212 มีค่าศักย์ออสโมซิสลดลงจากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 46.10 % ในขณะที่พันธุ์ KDML105 มีค่าลดลงจากกลุ่มควบคุมเท่ากับ 26.11 % (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 2 ค่าศักย์ของน้ำในใบของข้าวจำนวน 6 สายพันธุ์ ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 0, 20 และ 40 วัน (mean±SE)

สายพันธุ์ / พันธุ์	ศักย์ของน้ำในใบ (MPa)								
	0 วัน			20 วันหลังงดให้น้ำ			40 วันหลังงดให้น้ำ		
	ควบคุม	ขาดน้ำ	เพิ่ม-ลด (%)	ควบคุม	ขาดน้ำ	เพิ่ม-ลด (%)	ควบคุม	ขาดน้ำ	เพิ่ม-ลด (%)
CSSL 17	-1.07 ± 0.11a	-1.31 ± 0.08a	22.12	-1.62 ± 0.06c	-1.67 ± 0.05b	3.09	-1.93 ± 0.09a	-2.08 ± 0.10b	7.87
CSSL 18	-1.35 ± 0.14a	-1.30 ± 0.16a	3.70	-1.73 ± 0.09a,b	-1.77 ± 0.08a,b	2.31	-1.63 ± 0.06b	-2.06 ± 0.11b	26.89
CSSL 19	-1.27 ± 0.04a	-1.46 ± 0.00a	15.26	-1.82 ± 0.02a,b	-1.90 ± 0.08a	4.40	-1.87 ± 0.04a	-2.04 ± 0.09b	9.19
CSSL 20	-1.43 ± 0.11a	-1.53 ± 0.13a	6.74	-1.73 ± 0.04a,b	-1.74 ± 0.05a,b	0.58	-1.84 ± 0.04a	-2.06 ± 0.08b	11.94
KDML105	-1.43 ± 0.06a	-1.40 ± 0.08a	1.87	-1.66 ± 0.03b,c	-1.65 ± 0.05b	0.60	-1.53 ± 0.05b	-2.12 ± 0.11b	38.56
DH212	-1.44 ± 0.07a	-1.54 ± 0.05a	6.94	-1.87 ± 0.08a	-1.63 ± 0.03b	12.83	-1.83 ± 0.08a	-2.68 ± 0.12a	46.67
MEANS	-1.34	-1.41		-1.74	-1.73		-1.76	-2.17	
%CV	13.05	9.42		0.57	0.58		0.85	1.15	
F-test	ns	ns		ns	*		*	*	

ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบของข้าวจำนวน 6 สายพันธุ์ ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 0, 20 และ 40 วัน (mean±SE)

สายพันธุ์ /พันธุ์	ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ (%)								
	0 วัน			20 วันหลังงดให้น้ำ			40 วันหลังงดให้น้ำ		
	ควบคุม	ขาดน้ำ	เพิ่ม-ลด (%)	ควบคุม	ขาดน้ำ	เพิ่ม-ลด (%)	ควบคุม	ขาดน้ำ	เพิ่ม-ลด (%)
CSSL 17	92.78 ± 2.79a	94.41 ± 4.89ab	1.75	92.79 ± 1.03a	90.04 ± 1.04a	2.96	87.89 ± 0.89b	87.07 ± 1.63a	0.93
CSSL 18	89.75 ± 3.02a	98.68 ± 1.78b	9.95	91.00 ± 0.86a	90.22 ± 1.39a	0.85	90.44 ± 0.92b	85.63 ± 2.68a	5.32
CSSL 19	91.47 ± 0.74a	96.26 ± 3.26ab	5.24	89.88 ± 1.03a	89.29 ± 2.66a	0.65	86.84 ± 1.10b	88.05 ± 0.96a	1.39
CSSL 20	93.77 ± 0.81a	94.97 ± 4.69ab	1.28	91.23 ± 0.34a	93.07 ± 0.92a	2.02	89.20 ± 3.39a	87.36 ± 0.70a	2.07
KDML105	90.98 ± 3.80a	92.01 ± 1.27a	1.13	92.22 ± 0.59a	91.21 ± 1.54a	1.10	90.97 ± 0.54b	87.09 ± 1.38a	4.26
DH212	91.46 ± 4.04a	91.87 ± 0.25a	0.45	92.70 ± 0.41a	92.25 ± 0.53a	0.49	90.70 ± 0.66b	84.16 ± 2.39a	7.21
MEANS	91.70	94.70		91.61	91.02		89.34	86.63	
%CV	2.99	3.83		0.19	0.32		0.34	0.39	
F-test	ns	ns		ns	ns		ns	ns	

ตารางที่ 4 ค่าศักย์ออสโมซิสในใบของข้าวจำนวน 6 สายพันธุ์ ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 0, 20 และ 40 วัน (mean±SE)

สายพันธุ์ /พันธุ์	ศักย์ออสโมซิส (MPa)								
	0 วัน			20 วันหลังงดให้น้ำ			40 วันหลังงดให้น้ำ		
	ควบคุม	ขาดน้ำ	เพิ่ม-ลด (%)	ควบคุม	ขาดน้ำ	เพิ่ม-ลด (%)	ควบคุม	ขาดน้ำ	เพิ่ม-ลด (%)
CSSL 17	-2.94 ± 0.16b	-2.98 ± 0.12a	1.18	-2.74 ± 0.13b	-3.40 ± 0.07c	23.78	-2.66 ± 0.08b	-3.21 ± 0.07c	20.70
CSSL 18	-3.29 ± 0.29a,b	-3.18 ± 0.21a	3.47	-2.86 ± 0.07a,b	-3.71 ± 0.05a	29.45	-2.63 ± 0.11b	-3.77 ± 0.14a,b	43.18
CSSL 19	-3.49 ± 0.42a	-3.45 ± 0.44a	1.23	-2.99 ± 0.07a,b	-3.53 ± 0.05a,b,c	18.04	-3.01 ± 0.11a	-3.84 ± 0.14a,b	27.84
CSSL 20	-2.79 ± 0.23b	-2.84 ± 0.32a	1.84	-2.93 ± 0.04a,b	-3.51 ± 0.07b,c	19.89	-2.72 ± 0.03b	-3.62 ± 0.07b	33.07
KDML105	-2.78 ± 0.10b	-3.02 ± 0.34a	8.84	-3.01 ± 0.10a	-3.66 ± 0.07a,b	21.66	-2.84 ± 0.06a,b	-3.59 ± 0.10b	26.11
DH212	-3.08 ± 0.34a,b	-2.97 ± 0.36a	3.39	-2.79 ± 0.04a,b	-3.49 ± 0.05b,c	25.23	-2.75 ± 0.09b	-4.01 ± 0.16a	46.10
MEANS	-3.06	-3.07		-2.89	-3.54		-2.76	-3.66	
%CV	11.64	10.83		0.52	0.42		0.72	0.82	
F-test	*	ns		ns	*		ns	*	

ค่าสหสัมพันธ์ (Correlation)

จากการหาค่าความสัมพันธ์แบบสหสัมพันธ์ของข้าวที่ได้รับสภาพแล้งเป็นเวลา 40 วัน พบว่าค่า สัมพันธ์ของน้ำในใบมีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าปริมาณ น้ำสัมพัทธ์ ($R^2 = 0.70$) และค่าศักย์ออสโมซิส ($R^2 = 0.31$) แต่มีความสัมพันธ์แบบสหสัมพันธ์เชิงลบกับค่า คະແນນการม้วนของใบ ($R^2 = 0.84$)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ข้าวแสดงอาการใบม้วน ในกลุ่มข้าวที่ได้รับ สภาพขาดน้ำเป็นเวลา 40 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่าง กันทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยสายพันธุ์ CSSL ทั้ง 4 สาย พันธุ์ มีค่าคะแนนการม้วนของใบต่ำกว่าสายพันธุ์พ่อแม่ ซึ่งการม้วนของใบเป็นการปรับตัวเพื่อลดการ สูญเสียน้ำ มีรายงาน ว่า สภาพแล้งในระยะการ เจริญเติบโตทางลำต้นมีผลอย่างมากกับลักษณะทาง สันฐานวิทยาของข้าว ได้แก่ การม้วนของใบ การ ขยายตัวของแผ่นใบ การตายของใบ ซึ่งค่าคะแนนการ ม้วนของใบ ขึ้นอยู่กับระดับความแล้งและ

ความสามารถในการรักษาปริมาณน้ำภายในเซลล์ของพืชก็จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของพืช (O'Toole and Cruz, 1983; Hsiao et al., 1984; Lilley and Fukai, 1994) จากผลการทดลองพันธุ์ DH212 เป็นพันธุ์ทนแล้ง แสดงอาการม้วนใบมากกว่าพันธุ์ KDML105 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอ เนื่องจากพันธุ์ DH212 มีการแตกกอเป็นจำนวนมาก กล่าวคือ พันธุ์ DH212 มีขนาดทรงกอใหญ่กว่าพันธุ์ KDML105 ส่งผลทำให้พันธุ์ DH212 มีการใช้น้ำจำนวนมาก และเนื่องจากปลูกในกระถาง ทำให้จำกัดพื้นที่การเจริญของรากในการหาน้ำ เมื่อพืชใช้น้ำหมดจึงแสดงอาการเนื่องจากการขาดน้ำเร็วกว่าพันธุ์อ่อนแอ แต่ถ้าพันธุ์ DH212 ไปปลูกในสภาพแปลงก็จะทนต่อสภาพขาดน้ำ Nguyen et al. (1997) รายงานว่าขนาดทรงกอของข้าวมีผลทำให้การฟื้นตัวจากแล้งแตกต่างกัน โดยเมื่อเกิดสภาวะแล้งต้นฤดู ข้าวทรงกอใหญ่จะมีการลดค่าศักย์ของน้ำในใบต่ำลงอย่างรวดเร็วและมีใบแห้งตายมากกว่าข้าวทรงกอเล็ก แต่เมื่อได้รับน้ำอีกครั้งข้าวทรงกอใหญ่สามารถฟื้นตัวได้เร็วกว่าข้าวทรงกอเล็ก เนื่องจากมีพื้นที่ใบเหลือมากกว่า และสามารถสร้างน้ำหนักแห้งและผลผลิตได้มากกว่าข้าวทรงกอเล็ก

ค่าศักย์ของน้ำในใบมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 40 วัน โดยสายพันธุ์ CSSL 17 มีค่าศักย์ของน้ำในใบลดลงน้อยกว่าสายพันธุ์ CSSL อื่นๆ และสายพันธุ์พ่อแม่ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jongdee et al. (1998) รายงานว่าเมื่อข้าวได้รับสภาพแล้งจะส่งผลทำให้ค่าศักย์ของน้ำในใบลดลง และพันธุ์ข้าวที่มีค่าศักย์ของน้ำในใบสูงขณะเกิดสภาพแล้งช่วงข้าวใกล้ออกดอก จะมีเมล็ดลึบน้อยกว่าข้าวที่มีศักย์ของน้ำในใบต่ำกว่า ส่งผลให้พันธุ์ข้าวที่มีศักย์ของน้ำในใบสูงจะมีผลผลิตที่สูงอีกด้วย และ Wade et al. (2004) รายงานว่า ความแตกต่างของพันธุ์ข้าวในการรักษาค่าศักย์ของน้ำในใบอาจใช้เป็นลักษณะหนึ่งในการคัดเลือกข้าวในสภาพแล้งได้อีกด้วย

ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบมีค่าลดลงแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 40 วัน โดยสายพันธุ์ CSSL 17 มีค่าศักย์ของน้ำในใบลดลงน้อยกว่าสายพันธุ์ CSSL อื่นๆ และสายพันธุ์พ่อแม่ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สอดคล้องกับการศึกษาของ Nautiyal et al. (2003) รายงานว่า อัตราการลดลงของปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบเป็นไปในทางเดียวกับระดับของความชื้นดินที่ลดลง พันธุ์ถั่วลิสงที่ทนแล้งได้ดีจะสามารถรักษาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบไว้ได้สูง Babu et al. (1999) รายงานว่าเมื่อเกิดสภาพแล้ง สายพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอต่อความแห้งแล้งก็จะมีค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ลดต่ำลงมากกว่าสายพันธุ์ที่มีความสามารถทนทานต่อความแห้งแล้ง ระดับการลดลงของปริมาณน้ำสัมพัทธ์มีความสัมพันธ์เชิงลบกับระยะเวลาของการขาดน้ำ

ค่าศักย์ออสโมซิสมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 20 และ 40 วัน โดยในกลุ่มข้าวที่ได้รับสภาพขาดน้ำเป็นเวลา 40 วัน พบว่าสายพันธุ์ CSSL 17 มีค่าศักย์ออสโมซิสในใบลดลงน้อยกว่าสายพันธุ์ CSSL อื่นๆ และสายพันธุ์พ่อแม่ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากพืชจะมีการตอบสนองต่อสภาวะแล้งโดยการม้วนใบ ค่าศักย์ของน้ำในใบ และปริมาณน้ำสัมพัทธ์มีค่าลดลงแล้ว พืชยังมีการสะสมตัวถูกละลายที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เช่น โพรลีน น้ำตาล น้ำตาลแอลกอฮอล์ โกลซีน บีเทนเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลทำให้ค่าศักย์ออสโมซิสในใบของข้าวมีค่าลดลงเพื่อช่วยรักษาสมดุลของน้ำภายในเซลล์พืช

เมื่อทำการตรวจสอบความสัมพันธ์โดยการวิเคราะห์สหสัมพันธ์แบบเส้นตรงพบว่า ค่าศักย์ของน้ำในใบมีความสัมพันธ์แบบสหสัมพันธ์เชิงลบกับค่าคะแนนการม้วนของใบ ($R^2 = 0.84$) สอดคล้องกับการศึกษาของ Fukai and Cooper (1995) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงของลักษณะการม้วนของใบเป็นไปในทางเดียวกับการเปลี่ยนแปลงของค่าศักย์ของน้ำในใบ และยังพบว่าค่าศักย์ของน้ำในใบมีความสัมพันธ์

แบบสหสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ($R^2=0.70$) และค่าศักย์ออสโมซิส ($R^2=0.31$)

จะเห็นว่าความแตกต่างของสายพันธุ์ข้าวในการรักษาคุณค่าของน้ำ ปริมาณน้ำสัมพัทธ์ ศักย์ออสโมซิส และลักษณะการม้วนของใบดังกล่าว อาจใช้เป็นลักษณะหนึ่งในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวทนแล้งได้ (Turner, 1982; Jongdee, 1998; Jongdee et al., 2002) ผลการศึกษานี้พบว่าสายพันธุ์ CSSL17 สามารถรักษาสถานะของน้ำได้ดีกว่าสายพันธุ์ CSSL อื่นๆ และสายพันธุ์พ่อแม่ แสดงให้เห็นว่าการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยการย้ายชิ้นส่วน QTL ควบคุมลักษณะทนแล้งบนโครโมโซมที่ 9 จากพันธุ์ข้าวทนแล้งพันธุ์ DH212 ทำให้ได้สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการรักษาสถานะของน้ำได้ดีกว่าสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ดั้งเดิม ซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อสภาพขาดน้ำ นับว่าการศึกษานี้เป็นประโยชน์อย่างยิ่งจากการนำผลการเปลี่ยนแปลงสถานะของน้ำมาช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวทนแล้ง

อย่างไรก็ตามในอนาคตจำเป็นต้องมีนำสายพันธุ์ดังกล่าวไปศึกษาเพิ่มเติมต่อไปเพื่อให้เข้าใจถึงกลไกการปรับตัวและการตอบสนองต่อสภาพขาดน้ำในด้านอื่นๆ เช่น ผลผลิตทางการเกษตร การตอบสนองด้านสรีรวิทยาต่างๆ การตอบสนองของยีน เป็นต้น อันจะนำไปสู่การได้สายพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ทนแล้ง ที่มีคุณภาพ เพื่อจะสามารถนำไปส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกในพื้นที่แห้งแล้ง ซึ่งจะช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวของประเทศต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (TGIST) ขอขอบคุณภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำการทดลอง ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยข้าวทนแล้ง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

โจนาลิชา แอล เชียงหลิว, กาญจนา ปัญญาเวท,
กมลวรรณ เรียบร้อย ศักดิ์ชัย เสือขำ ชिरุยุทธ
ตุ้จินดา และ อภิชาติ วรรณวิจิตร. กลยุทธ์ในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวทนต่อสภาพแล้งที่เหมาะสมกับแต่ละพื้นที่เสี่ยงต่อการขาดน้ำในประเทศไทย. การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติ ครั้งที่ 2; 21-23 ธันวาคม 2555; กรุงเทพฯ. ปทุมธานี: สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ; 2555. หน้า 273-281.

Babu CR, Pathan MS, Blum A, Nguyen, HT. 1999. Comparison of measurement methods of osmotic adjustment in rice cultivars. *Crop Science*. 39: 150-158.

Fukai S, Cooper M. 1995. Development of drought resistant cultivars using physiomorphological trait in rice. *Field Crops Research*. 40: 67-86.

Hsiao TC, O'Toole JC, Yamboa EB, Turner NC. 1984. Influence of osmotic adjustment on leaf rolling and tissue death in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiology*. 75: 338-341.

Jongdee B. The Importance of leaf water potential and osmotic adjustment on growth and grain yield of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes under water deficit conditions. [Ph.D. Thesis]. The University of Queensland; 1998.

Jongdee B, Fukai S, Cooper M. 2002. Leaf water potential and osmotic adjustment as physiological traits to improve drought tolerance in rice. *Field Crops Research*. 76: 153-163.

- Kanjoo V. Development of chromosome segment substitution lines related to drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) [Ph.D. Thesis in Agricultural Biotechnology]. Interdisciplinary Graduate Program, Kasetsart University; 2011.
- Lilley TM, Fukai S. 1994. Effect of timing and severity of water deficit on four diverse rice cultivars. III. Phenological development crop growth and grain yield. *Field Crops Research*. 37: 225-234.
- Mahajan S, Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysical Society*. 444: 139-158.
- Nautiyal PC, Roa RN, Jodhi YC. 2003. Moisture deficit induced changes in leaf water content, leaf carbon exchange rate and biomass production in groundnut cultivars differing in specific leaf area. *Field Crops Research*. 74: 67-79.
- Nguyen HT, Babu RC, Blum A. 1997. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. *Crop Science*. 37: 1426-1434.
- O'Toole JC, Cruz RT. 1983. Genotypic variation in epicuticular wax of rice. *Crop Science*. 23: 392-394.
- O'Toole JC, Moya TB. 1978. Genotypic variation in maintenance of leaf water potential in rice. *Crop Science*. 18: 873-876.
- Turner NC. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil*. 58: 339-366.
- Turner NC. 1982. The role of shoots characteristics in drought resistance of crop plants. In: *Drought Resistance in Crop with Emphasis on Rice*, IRRI, Los Banos, Philippines. pp. 115-134.
- Wade LJ, Kamoshita A, Yawauchi A, Rodriguez R. 2004. Genotypic variation in response of rainfed lowland rice to drought and rewatering. *Plant Production Science*. 7(4): 406-420.