วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 36 (ฉบับพิเศษ): 124-131

ผลของบราสสิโนสเตียรอยด์ แอนาลอก ต่อการงอกละอองเรณู และการติดเมล็ดของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ในระยะตั้งท้อง ภายใต้ภาวะเครียดจากความร้อน

Effect of Brassinosteroid Analogue on Pollen Germination and Seed Setting of Rice (*Oryza sativa* L.) cv. Pathum Thani 1 in Booting Stage under Heat Stress

ณัฐชยา ลิมโกมลวิลาศ[1] วีรศิลป์ สอนจรูญ[1] อรอุษา คำสุข[1] และคณพล จุฑามณี[1*]
Natchaya Limkomolvilas, Weerasin Sonjaroon, Ornusa Khamsuk and Kanapol Jutamanee

บทคัดย่อ

สาร 7,8-dihydro-8α-20-hydroxyecdysone (DHECD) เป็นสารคล้ายบราสสิโนสเตียรอยด์ ที่สามารถบรรเทาความเครียดจากสภาพแวดล้อมได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อพืชได้รับความเครียดจากความร้อน ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ศึกษาผลของสาร DHECD ต่อการงอกละอองเรณู และการติดเมล็ดของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ภายใต้ภาวะเครียดจากความร้อน โดยทำการพ่นสาร DHECD ความเข้มข้น 0.001 µM ทางใบเมื่อข้าวอยู่ในระยะตั้งท้อง พบว่า การพ่น DHECD ให้ต้นข้าว สามารถเพิ่มความมีชีวิตของละอองเรณู การงอกของละอองเรณูบนเกสรเพศเมีย และการติดเมล็ด ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุมทั้งในต้นข้าวที่ได้รับอุณหภูมิสูงและอุณหภูมิปกติ โดยเฉพาะการพ่น DHECD ในสภาพอุณหภูมิสูงสามารถเพิ่มความมีชีวิตของละอองเรณูได้ถึง 33.59 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มการงอกของหลอดละอองเรณูบนเกสรเพศเมียที่เพิ่มขึ้นและมีการติดเมล็ดของข้าวได้ใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิปกติ ดังนั้นการให้สาร DHECD สามารถเพิ่มการงอกละอองเรณู และการติดเมล็ดของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ภายใต้ภาวะเครียดจากความร้อน

คำสำคัญ: 7,8-dihydro-8α-20-hydroxyecdysone อุณหภูมิสูง การงอกของละอองเรณู

Abstract

7,8-dihydro-8α-20-hydroxyecdysone (DHECD) is brassinosteroid analogue which can alleviate the effect of environmental stresses, especially plant exposed to heat stress. The effect of DHECD was evaluated on pollen germination and seed setting of rice (*Oryza sativa* L.) cv. Pathum Thani 1 under heat stress. Rice was spared the 0.001 µM DHECD at booting stage of rice. The result showed that the rice plant treated with DHECD in booting stage significantly increase pollen viability, pollen tube growth and seed setting in both normal and high temperature regimes. Especially in high temperature condition, the rice treated with DHECD increased 33.59% of pollen viability and tended to increase the germination of the pollen tube and the seed setting when compared with control under normal temperature. Therefore, DHECD application can improve pollen germination and seed setting of rice (*Oryza sativa* L.) cv. Pathum Thani 1 under heat stress.

Keywords: 7,8-dihydro-8α-20-hydroxyecdysone, high temperature, pollen tube growth

[1] ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
* Corresponding Author: faaskpj@ku.ac.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นธัญพืชหลักที่ประชากรมากกว่าครึ่งหนึ่งของโลกบริโภคเป็นอาหารสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแถบทวีปเอเชีย ซึ่งประเทศไทยก็เป็นหนึ่งในทวีปเอเชียที่มีข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศ และมีการส่งออกข้าวเป็นอันดับต้นๆ ในเขตภูมิภาคเอเชีย ในปี พ.ศ. 2558 ประเทศไทยผลิตข้าวส่งออก 9.79 ล้านตัน ลดลงกว่าปี 2557 ถึง 10.69 เปอร์เซ็นต์ สูญเสียมูลค่าการส่งออก 18,939 ล้านบาท ในจำนวนนี้เป็นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง มีการปลูกอย่างกว้างขวาง และสามารถปลูกหมุนเวียนได้ตลอดปี (คลังข้อมูลสารสนเทศข้าวเชิงลึก, 2560) โดยมีการส่งออกลดลงจาก 161,071 ตัน ในปี พ.ศ. 2557 เหลือเพียง 124,400 ตัน ในปี พ.ศ. 2558 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) การลดลงของการส่งออกข้าวเป็นผลเนื่องมาจากภาคกลางของประเทศไทยเป็นที่ราบลุ่มทำให้เกิดน้ำท่วมในช่วงฤดูฝน ระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนพฤศจิกายนของทุกปี เป็นสาเหตุทำให้เกษตรกรไม่สามารถปลูกข้าวได้ เกษตรกรจึงต้องปลูกข้าวล่าช้า โดยเริ่มปลูกข้าวในเดือนกุมภาพันธ์ หลังจากฤดูน้ำท่วมผ่านไป ทำให้ข้าวเจริญเติบโตผ่านช่วงที่มีอุณหภูมิสูงของประเทศ จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตของข้าวและทำให้ผลผลิตข้าวลดลง (วีรศิลป์, 2557) นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มว่าอุณหภูมิพื้นผิวโลกที่สูงขึ้นจะทำให้ผลผลิตข้าวทั่วโลกลดลง 41% (Ceccarelli *et al.*, 2010) โดย Matsui *et al.* (2001) รายงานว่าอุณหภูมิที่สูงกว่า 35 องศาเซลเซียสจะทำให้การงอกของละอองเรณูและอัตราการปฏิสนธิของข้าวลดลง และอุณหภูมิที่สูงขึ้น 1 องศาเซลเซียสจะทำให้การติดเมล็ดของข้าวลดลงประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (Peng *et al.*, 2004) ในปัจจุบันพบว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เช่น บราสสิโนสเตียรอยด์ (Brassinosteroids; BRs) สามารถเพิ่มผลผลิตให้แก่พืชได้ เนื่องจากบราสสิโนสเตียรอยด์สามารถกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ ชักนำให้เกิดการงอกของละอองเรณู เพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสง และทำให้พืชทนทานต่อความเครียดทั้งชีวภาพและกายภาพ (Mandava, 1988; Sasse, 1997; Cloues and Sasse, 1998) ผลของการใช้ บราสสิโนสเตียรอยด์สามารถทำให้พืชทนทานต่ออุณหภูมิสูงด้วยสาเหตุหลัก 3 ประการ คือ ประการแรกบราสสิโนสเตียรอยด์ช่วยเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงในสภาพอุณหภูมิสูง (Singh and Shono, 2005; Ogweno *et al.*, 2008) โดยการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้แสง นำมาสู่การเพิ่มขึ้นของค่า photochemical quenching (Yu *et al.*, 2004) การศึกษาในข้าวบาร์เลย์พบว่า การใช้บราสสิโนสเตียรอยด์ทำให้ระบบแสงสูงฟื้นตัวจากความเสียหายจากความร้อนเมื่อย้ายพืชมาที่อุณหภูมิปกติได้รวดเร็วขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า บราสสิโนสเตียรอยด์สามารถป้องกันการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ และลดความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์เมื่อพืชอยู่ในสภาวะเครียดจากความร้อน (Krishna, 2003) ประการที่สองการใช้บราสสิโนสเตียรอยด์ช่วยเพิ่มความทนทานต่ออุณหภูมิสูงโดยการลดการเกิด Rective Oxygen Species (ROS) ทำให้การเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ลดลง (Janeczko *et al.*, 2011) เนื่องจาก บราสสิโนสเตียรอยด์ช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด (Mazorra *et al.*, 2002; Cao and Zhao, 2008) ประการที่สามบราสสิโนสเตียรอยด์สามารถกระตุ้นให้พืชมีการแสดงออกของ Heat Shock Proteins (HSPs) จึงทำให้พืชทนทานต่ออุณหภูมิสูงวิกฤติได้ (Dhaubhadel *et al.*, 1999; Singh and Shono, 2005; Mazorra *et al.*, 2011) ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของบราสสิโนสเตียรอยด์แอนาลอก (7,8-dihydro-8α-20-hydroxyecdysone, DHECD) ที่มีต่อความมีชีวิตของละอองเรณู การงอกของละอองเรณู และการติดเมล็ดของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมพันธุ์ข้าวและการปลูก

คัดเลือกเมล็ดพันธุ์ที่สมบูรณ์ โดยการใส่น้ำในภาชนะแช่เมล็ดพันธุ์แล้วคน 1-2 นาที เลือกเมล็ดที่ลอยน้ำซึ่งเป็นเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ทิ้ง นำเมล็ดที่จมน้ำแช่น้ำต่ออีก 24 ชั่วโมง จากนั้น นำเมล็ดมาห่อด้วยผ้าขาวบาง รดน้ำให้ชุ่มพักไว้อีก 1 คืน เมื่อปรากฏรากยาวประมาณ 3-5 มิลลิเมตร ให้นำเมล็ดไปปลูกในกระบะซึ่งบรรจุดินเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นย้ายต้นกล้าไปปลูกในกระถาง กระถางละ 1 ต้น และรักษาระดับน้ำให้สูงประมาณ 5 เซนติเมตรตลอดการปลูก ทดลองที่ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (บางเขน)

2. วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design; CRD) โดยมีสิ่งทดลอง 4 สิ่ง ดังนี้

1. ข้าวที่ไม่ได้พ่นด้วย DHECD (ชุดควบคุม) และอยู่ในอุณหภูมิปกติ (CK1)
2. ข้าวที่พ่นด้วย DHECD ในระยะตั้งท้อง (booting) และอยู่ในอุณหภูมิปกติ (DN)
3. ข้าวที่ไม่ได้พ่นด้วย DHECD (ชุดควบคุม) และได้รับอุณหภูมิสูง (CK2)
4. ข้าวที่พ่นด้วย DHECD ในระยะตั้งท้อง (booting) และได้รับอุณหภูมิสูง (DH)

ทำการพ่น DHECD ความเข้มข้น 0.001 µM ทางใบเมื่อข้าวอยู่ในระยะตั้งท้อง (booting) ปริมาณ 20 มิลลิลิตรต่อกระถาง ในสิ่งทดลองที่ 2 และ 4 และ ทำการพ่นน้ำกลั่น ปริมาณ 20 มิลลิลิตรต่อกระถาง ในสิ่งทดลองที่ 1 และ 3 หลังจากนั้น 5 วัน ย้ายสิ่งทดลองที่ 1 และ 2 เข้าสู่ห้องควบคุมอุณหภูมิ (growth chamber) ที่อุณหภูมิปกติ (อุณหภูมิเวลากลางวัน 30 องศาเซลเซียส และเวลากลางคืน 25 องศาเซลเซียส) และย้ายสิ่งทดลองที่ 3 และ 4 เข้าสู่ห้องควบคุมอุณหภูมิสูง (growth chamber) ที่ควบคุมอุณหภูมิเวลากลางวัน 40 องศาเซลเซียส และเวลากลางคืน 30 องศาเซลเซียส ติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน โดยเก็บข้อมูลความมีชีวิตของละอองเรณูตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 5 ขณะที่ได้รับอุณหภูมิสูงและเก็บข้อมูลการงอกของหลอดละอองเรณูบนเกสรเพศเมีย ในวันที่ 1, 3 และ 5 ขณะที่ได้รับอุณหภูมิสูงเช่นเดียวกัน เมื่อต้นข้าวได้รับความเครียดจากความร้อนเป็นเวลา 5 วัน ทำการย้ายต้นข้าวไว้ในอุณหภูมิปกติ จนกระทั่งต้นข้าวอายุครบ 124 วัน ทำการเก็บข้อมูลการติดเมล็ด

3. การเก็บข้อมูล

3.1 ทดสอบความมีชีวิตด้วย I_2-K_2 โดยใช้ iodine potassium iodide (I_2-KI) 1%

เก็บละอองเรณูจากดอกข้าวในระยะช่อดอกโผล่พ้นใบธง (anthesis) จนถึงระยะที่เริ่มมีการถ่ายละอองเรณู (pollination) เก็บในช่วงเวลา 8.00-10.00 น. ซึ่งเป็นช่วงที่ดอกบาน โดยสุ่มเก็บ 2 กระถาง/ซ้ำ จำนวน 5 ซ้ำ ในวันที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ของช่วงที่ดอกบาน โดยทำการเก็บดอกข้าวไว้ภายในขวดแก้วที่บรรจุ absolute ethanol : acetic acid อัตราส่วน 3:1 จากนั้นนำมาทดสอบความมีชีวิตของเรณูภายใน 24 ชั่วโมง โดยดึงอับเรณูทั้ง 6 อัน จากดอกข้าววางบนสไลด์บดอับเรณูให้แตกด้วยฟอร์เซ็ปปากคีบ และเขี่ยส่วนที่ไม่ใช่เรณูทิ้ง หยด I_2-KI บนเรณู ทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ใช้กระดาษทิชชู่ซับสีส่วนเกินออก นำไปศึกษาใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อใช้จำแนกความมีชีวิตและไม่มีชีวิตของละอองเรณู จากการติดสีของเม็ดแป้ง (starch grain) โดยละอองเรณูที่มีชีวิต (viable pollen) พบการติดสีน้ำตาลเข้ม และสีดำเต็มพื้นที่ของละอองเรณู และละอองเรณูที่ไม่มีชีวิต (unviable pollen) จะไม่พบการติดสีหรือมีสีเหลือง และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณู โดยนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธีการ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณู (pollen viability)} = \frac{\text{จำนวนเรณูที่มีชีวิต X 100}}{100}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การงอกของหลอดละอองเรณูบนเกสรเพศเมีย

ทำการเก็บรังไข่ (ovary) จากดอกข้าวในระยะถ่ายละอองเรณู (pollination) เก็บในช่วงเวลา 12.00-15.00 น. ซึ่งเป็นช่วงที่ดอกข้าวได้รับการผสมเกสรแล้ว โดยสุ่มเก็บ 1 กระถาง/ซ้ำ จำนวน 5 ซ้ำ ในแต่ละสิ่งทดลอง ซึ่งจะทำการเก็บดอกข้าวจำนวน 3 ครั้ง (เก็บในวันที่ 1, 3, และ 5) โดยเก็บรังไข่ไว้ภายในขวดแก้วที่บรรจุ absolute ethanol : formaldehyde อัตราส่วน 3:1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น ย้ายรังไข่ลงใน sodium hydroxide (NaOH) ความเข้มข้น 0.5 โมล/ลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วย้อมด้วยสี aniline blue 0.05 เปอร์เซ็นต์ ใน photassium phosphate เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent microscope) โดยบริเวณที่ติดสี คือ callose เป็นส่วนประกอบของผนังละอองเรณูที่จะเจริญไปสู่รังไข่ และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การงอกของหลอดละอองเรณูบนเกสรเพศเมีย โดยนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธีการ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอกของหลอดละอองเรณูบนเกสรเพศเมีย} = \frac{\text{จำนวนหลอดละอองเรณูที่งอก}}{\text{จำนวนละอองเรณูที่ยอดเกสรเพศเมีย}} \times 100$$

3.3 การติดเมล็ดของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

ทำการทดลองสิ่งทดลองละ 10 ซ้ำ (replication) ซ้ำละ 1 กระถาง พ่น DHECD ทางใบเมื่อข้าวอยู่ในระยะตั้งท้อง (booting) พ่น DHECD ปริมาณ 20 มิลลิลิตรต่อกระถาง ในสิ่งทดลองที่ 2 และ 4 หลังจากนั้น 5 วัน ย้ายสิ่งทดลองที่ 3 และ 4 เข้าสู่ห้องควบคุมอุณหภูมิ (growth chamber) ที่ควบคุมอุณหภูมิเวลากลางวัน 40 องศาเซลเซียส และเวลากลางคืน 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำออกมาไว้ในสภาพอุณหภูมิปกติรอเก็บเกี่ยวข้าวเมื่ออายุ 124 วัน และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดของข้าว โดยนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธีการ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดของข้าว} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดดี}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \times 100$$

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ความมีชีวิตของละอองเรณู

ละอองเรณูของต้นข้าวที่ได้รับอุณหภูมิสูง ทำให้ความมีชีวิตของละอองเรณูลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 5 เมื่อเปรียบเทียบกับละอองเรณูของต้นข้าวที่รับอุณหภูมิปกติ โดยเฉพาะในวันที่ 5 จะเห็นได้ว่าความมีชีวิตของละอองเรณูลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับการติดสีของละอองเรณูที่ถูกย้อมด้วย iodine โดยละอองเรณูที่มีชีวิตจะติดสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ ส่วนละอองเรณูที่ไม่มีชีวิตจะไม่ติดสีหรือมีสีเหลือง (Figure 1) การพ่นสาร DHECD ให้กับต้นข้าว ที่อุณหภูมิปกติในระยะตั้งท้องของข้าว สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูได้สูงที่สุด เท่ากับ 69.43 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 5 ในขณะที่การพ่นสาร DHECD ให้กับต้นข้าว ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูง 40 องศาเซลเซียส สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของละอองเรณูได้มากกว่าชุดควบคุม (CK2) ถึง 33.59 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) จากผลการทดลองมีความสอดคล้องกับงานของ Singh and Shono (2005) พบว่า บราสสิโนสเตียรอยด์สามารถลดการแตกของละอองเรณูในมะเขือเทศในหลอดทดลอง และทำให้พืชทนต่ออุณหภูมิสูงได้ถึง 45 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 1 Effect of DHECD on percentage of pollen viability under high temperature on stigma.

Treatment	Percentage of pollen viability				
	Number of day in heat stress (day)				
	1	2	3	4	5
CK1	71.87a	73.43b	69.73a	64.03b	60.07b
DN	76.37a	79.77a	71.27a	78.03a	69.43a
CK2	63.13b	51.60c	34.00c	28.10d	23.13d
DH	65.93b	52.53c	44.77b	41.70c	34.83c
F-test	**	**	**	**	**
CV (%)	8.44	20.58	30.76	38.40	41.73

Means with the same letter in the same column are not significantly different at P<0.05 by DMRT. Significance level: ** = P < 0.01.

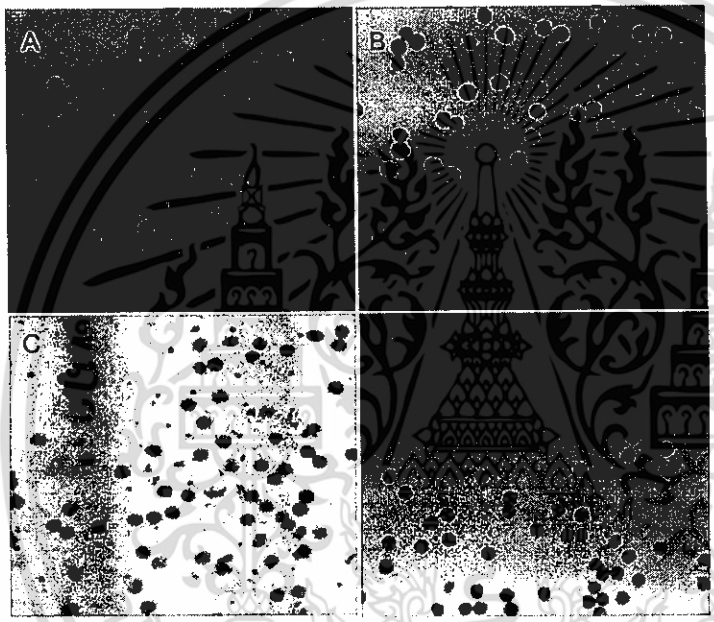

Figure 1 Iodine staining of pollen mature. The pollen grain with water application in ambient temperature (A), in high temperature (C) and the pollen grain with DHECD application in ambient temperature (B), in high temperature (D). (20x)

2. การงอกของหลอดละอองเรณูบนเกสรเพศเมีย

ต้นข้าวที่ได้รับความร้อนเป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีการงอกของหลอดละอองเรณูบนเกสรเพศเมียลดลงอย่างชัดเจน จากวันแรกที่มีการงอก 13.27 เปอร์เซ็นต์ ลดลงเหลือเพียง 3 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 5 ต้นข้าวที่ได้รับอุณหภูมิปกติ พบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกของหลอดละอองเรณูบนเกสรเพศเมียในวันที่ 1, 3 และ 5 ไม่แตกต่างกัน และมีเปอร์เซ็นต์การงอกของหลอดละอองเรณูสูงกว่าที่อุณหภูมิสูงถึง 83.75 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) การพ่นสาร DHECD ที่สภาพอุณหภูมิปกติ โดยเฉพาะในวันที่ 5 สามารถเพิ่มการงอกของหลอดละอองเรณูได้ถึง 29.36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุม (CK1) 10.90 เปอร์เซ็นต์ (Table 2, Figure 2) ในขณะที่การพ่นสาร DHECD ที่สภาพอุณหภูมิสูง 40 องศาเซลเซียส พบว่า การงอกของหลอดละอองเรณูไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม (CK2) แต่มีแนวโน้มว่าการพ่นสาร DHECD สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกของหลอดละอองเรณูได้สูงกว่าชุดควบคุม (CK2) (Table 2) การทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Cao *et al.* (2009) พบว่า เมื่อข้าวได้รับอุณหภูมิสูงในระยะแทงรวง (heading stage) จะส่งผลกระทบต่อการพัฒนาของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้มากกว่าการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย การใช้บราสสิโนสเตียรอยด์อาจมีผลในการเพิ่มการปฏิสนธิของพืช โดยการเพิ่มการงอกของละอองเรณูและช่วยคงสภาพของละอองเรณูให้มีความสมบูรณ์ (Müssing, 2005)

Table 2 Effect of DHECD on percentage of pollen tube germination on stigma under high temperature on stigma.

Treatment	Percentage of pollen tube growth on stigma		
	Number of day in heat stress (day)		
	1	3	5
CK1	15.04b	17.46b	18.46b
DN	34.50a	30.70a	29.36a
CK2	13.27b	7.84b	3.00c
DH	15.65b	10.09b	4.38c
F-test	*	*	**
CV (%)	63.44	72.15	91.3

Means with the same letter in the same column are not significantly different at P<0.05 by DMRT. Significance level: ** = P < 0.01, * = P < 0.05.

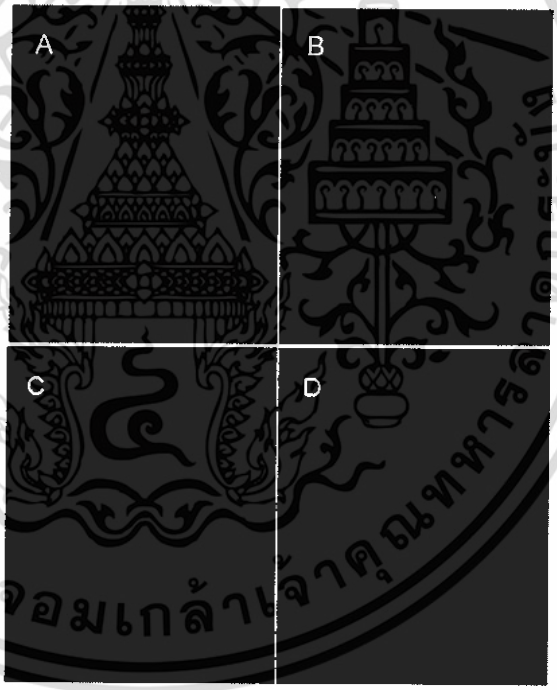

Figure 2 Fluorescence microscopy images of pollen tube growth. The pollen grain with water application in ambient temperature (A), in high temperature (C) and the pollen grain with DHECD application in ambient temperature (B), in high temperature (D). red arrowhead indicated pollen tube germination. (40x)

3. การติดเมล็ดของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

ต้นข้าวที่ได้รับอุณหภูมิสูงในช่วงระยะตั้งท้อง พบว่ามีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีเพียง 17.99 เปอร์เซ็นต์ น้อยกว่าต้นข้าวที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิปกติถึง 73.77 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเมล็ดต่อรวงน้อยกว่าอุณหภูมิปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25.26 เปอร์เซ็นต์ และมีน้ำหนัก 100 ต่ำกว่าอุณหภูมิปกติถึง 23.45 เปอร์เซ็นต์ (Table 3) สอดคล้องกับการรายงานของ Matsui *et al.* (2001) พบว่าอุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส จะทำให้การงอกของละอองเรณูและอัตราการปฏิสนธิของข้าวลดลง นอกจากนี้อุณหภูมิสูงยังทำให้จำนวนเมล็ดต่อรวง อัตราการติดเมล็ด น้ำหนักเมล็ด และผลผลิตข้าวลดลง (Cao *et al.*, 2009) การให้สาร DHECD กับต้นข้าวที่ได้รับอุณหภูมิสูงและอุณหภูมิปกติ สามารถเพิ่มการติดเมล็ดได้ดีขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการให้สาร DHECD ในสภาวะที่ได้รับความเครียดจากความร้อนสามารถเพิ่มการติดเมล็ดได้ใกล้เคียงกับต้นข้าวที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิปกติ (Table 3)

Table 3 Effect of DHECD on seed setting under high temperature for 5 day.

Treatment	Percentage of filled spikelets per plant (%)	Number of spikelet per panicle (seed)	100-grain weight (g)
CK1	68.59a	28.90ab	2.26a
DN	70.67a	35.60a	2.29a
CK2	17.99b	21.60b	1.73c
DH	62.36a	29.93a	2.05b
F-test	**	*	**
CV (%)	41.73	21.63	11.61

Means with the same letter in the same column are not significantly different at P<0.05 by DMRT. Significance level: ** = P < 0.01, * = P < 0.05.

สรุป

การพ่น DHECD ให้ต้นข้าวในระยะตั้งท้อง (booting) สามารถเพิ่มความมีชีวิตของละอองเรณู การงอกของละอองเรณูบนเกสรเพศเมีย และการติดเมล็ด ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ทั้งในสภาพอุณหภูมิสูงและอุณหภูมิปกติ โดยเฉพาะการพ่น DHECD ในสภาพอุณหภูมิสูงสามารถเพิ่มการติดเมล็ดของข้าวได้ใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิปกติ

เอกสารอ้างอิง

คลังข้อมูลสารสนเทศข้าวเชิงลึก 2560. การเพาะปลูกข้าว-พันธุ์ข้าว. แหล่งที่มา http://www.arda.or.th/kasetinfo/rice/rice-cultivate_species.html, 18 มกราคม 2561.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 2560. สถิติการส่งออกข้าวประจำปี 2557-2558. แหล่งที่มาhttp://www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php, 17 พฤศจิกายน 2560.

วีรศิลป์ สอนจรูญ. 2557. ผลของบราสสิโนสเตียรอยด์ แอนาลอก ต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาบางประการและผลผลิตของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ภายใต้ภาวะเครียดจากความร้อน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Cao, Y., H. Duan, L. Yang, Z. Wang, L. Liu and J. Yang. 2009. Effect of high temperature during heading and early filling on grain yield and physiological characteristics in indica rice. Acta Agron. Sin. 35 (3): 512-521.

Cao, Y. and H. Zhao. 2008. Protective roles of brassinolide on rice seedlings under high temperature stress. Rice Sci. 15 (1): 63-68.

Ceccarelli, S., S. Grando, M. Maatougui, M. Michael, M. Slash, R. Haghparast, M. Rahmanian, A. Taheri, A. Al-Yassin, A. Benbelkacem, M. Labdi, H. Mimoun and M. Nachit. 2010. Plant breeding and climate changes. J. Agri. Sci. 148, 627-637.

Clouse, S. D. and J. M. Sasse. 1998. BRASSINOSTEROIDS: essential regulators of plant growth and development. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49: 427-451.

Dhaubhadel, S., S. Chaudhary, K. F. Dobinson and P. Krishna. 1999. Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermotolerance of *Brassica napus* and tomato seedlings. Plant Mol. Biol. 40: 333-342.

Janeczko, A., J. Oklešťková, E. Pociecha, J. Koscielniak and M. Mirek. 2011. Physiological effects and transport of 24-epibrassinolide in heat-stressed barley. Acta. Physiol. Plant. 33 (4): 1249-1259.

Krishna, P. 2003. Brassinosteroid-mediated stress responses. Plant Growth Regul. 22: 289-297.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mandava, N. B. 1988. Plant growth-promoting brassinosteroids. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 39: 23-52.

Matsui, T., K. Omasa and T. Horie. 2001. The difference in sterility due to high temperatures during the flowering period among japonica-rice varieties. Plant Prod. Sci. 4 (2): 90-93.

Mazorra, L. M., N. Holton, G. J. Bishop and M. Núnez. 2011. Heat shock response in tomato brassinosteroid mutants indicates that thermotolerance is independent of brassinosteroid homeostasis. Plant Physiol. Biochem. 49 (12): 1420-1428.

Mazorra, L. M., M. Núnez, M. Hechavarria, F. Coll and M.J. Sánchez-Blanco. 2002. Influence of brassinosteroid on antioxidant enzymes activity in tomato under different temperatures. Biol. Plant. 45 (4): 593-596.

Müssig, C. 2005. Brassinosteroid-promoted growth. Plant. Biol. 7(2): 110-117.

Ogweno, J.O., X.S. Song, K. Shi, W.H. Hu, W.H. Mao, Y.H. Zhou, J.O. Yu and S. Nogués. 2008. Brassinosteroids alleviate heat-induced inhibition of photosynthesis by increasing carboxylation efficiency and enhancing antioxidant systems in *Lycopersicon esculentum*. J. Plant Growth Regul.27 (1): 49-57.

Peng, S., J. Huang, J.E. Sheehy, R.C. Laza, R.M. Visperas, X. Zhong, G.S. Centeno, G.S. Khush and K.G. Cassman. 2004. Rice yields decline with higher night temperature from global warming. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 101 (27): 9971-9975.

Sasse, J. M. 1997. Recent progress in brassinosteroid research. Physiol. Plantarum. 100 (3): 696-701.

Singh, I. and M. Shono. 2005. Physiological and molecular effects of 24-epibrassinolide, a brassinosteroid on thermotolerance of tomato. Plant Growth Regul. 47 (2): 111-119.

Yu, J.Q., L.F. Huang, W.H. Hu, Y.H. Zhou, W.H. Mao, S.F. Ye and S. Nogués. 2004. A role for brassinosteroids in the regulation of photosynthesis in *Cucumis sativus*. J. Exp. Bot. 55 (9): 1135-1143.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้