บทนำ

สภาวะโลกร้อนส่งผลให้อุณหภูมิเฉลี่ยของโลกเพิ่มสูงขึ้นประมาณ 0.2 องศาเซลเซียสในทุกๆ ทศวรรษตั้งแต่ราวปี 1970 เป็นต้นมา(Hansen et al., 2006) ข้อมูลจากคณะกรรมการระดับรัฐบาลว่าด้วยเรื่องการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ(Intergovermental Panel on Climate Change)หรือIPCC ระบุว่าในส่วนของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในช่วงปี 1951-2000 ที่ผ่านมานั้น อุณหภูมิเฉลี่ยมีการเพิ่มขึ้นในอัตราประมาณ0.1-0.2องศาเซลเซียสต่อทศวรรษและภายในปี 2039 คาดว่าอุณหภูมิในภูมิภาคนี้จะเพิ่มสูงขึ้นจากปัจจุบันอีกราว 0.72-0.86 องศาเซลเซียส อุณหภูมิในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้นั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดมาโดยตลอด เห็นได้จากการเพิ่มขึ้นของจำนวนวันร้อน(วันที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยเกิน 30 องศาเซลเซียส) และการเกิดสภาวะคลื่นอากาศร้อน(heat wave)ที่ยาวนานและรุนแรงมากขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วงสิบปีที่ผ่านมา (Cruz et al., 2007) ข้อมูลจากรายงานของ Asian Development Bank (ADB) ระบุว่าอุณหภูมิของประเทศไทยในช่วงห้าทศวรรษที่ผ่านมามีการเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ โดยอัตราการเพิ่มอยู่ที่ประมาณ 0.1-0.18 องศาเซลเซียสต่อทศวรรษ (ADB, 2009) สภาวะการณ์เช่นนี้ย่อมต้องก่อให้เกิดผลกระทบต่อผลผลิตทางการเกษตรอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้

ความร้อนมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและกระบวนการทางสรีรวิทยาของผักหลายชนิด ตัวอย่างเช่น ผักคะน้า *(Brassica oleracea L.)* สายพันธุ์ winterbor เมื่อปลูกที่อุณหภูมิ30องศาเซลเซียสพบว่ามีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลดลงกว่าเมื่อเทียบกับการปลูกที่อุณหภูมิ25องศาเซลเซียส(Lefsrud and Kopsell, 2005) ในผักโขมพบว่าประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงจะเริ่มลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงเกินกว่า30องศาเซลเซียสและลดลงมากกว่า80%ที่อุณหภูมิประมาณ40องศาเซลเซียส (Yamane et al., 1998) มะเขือเทศที่ปลูกที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส มีจำนวนผลต่อต้น,น้ำหนักผลและจำนวนเมล็ดต่อผลต่ำกว่าต้นที่ปลูกที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Peet et al., 1997)และ มะเขือเทศเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ32/26องศาเซลเซียส (กลางวัน/กลางคืน)มีปริมาณของละอองเรณูที่มีชีวิตต่ำกว่าต้นที่เจริญที่อุณหภูมิ 28/22 องศาเซลเซียส (Pressman et al., 2002) ในผักสลัด*(Lactuca sativa)*พันธุ์ Ithacaพบว่าในระยะหลังเข้าหัว 2 อาทิตย์เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 35/25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3-5 วันใบจะแสดงอาการเส้นใบสีน้ำตาลซึ่งส่งผลต่อคุณภาพของผลผลิตและทำให้ราคาของผลผลิตลดลง(Jenni, 2005) ในแตงกวาเมื่อนำใบเลี้ยงไปบ่มที่อุณหภูมิ42องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมงพบว่าอัตราการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ลดลงถึง 60% (Tewari and Tripathy, 1998) นอกจากนี้ตาดอกของบล็อคโคลี่จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตหรือเจริญเป็นดอกที่ผิดรูปทรงเมื่อเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ35องศาเซลเซียส (Bjorkman and Pearson, 1998) ผลงานวิจัยเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าสภาวะอุณหภูมิสูงมีแนวโน้มทำให้อัตราการเจริญเติบโต, การสังเคราะห์แสงและการติดผลของพืชผักหลายชนิดลดลง ในสภาพแปลงปลูกจริงในธรรมชาตินั้นอุณหภูมิดอนกลางวันในช่วงฤดูร้อนอาจเพิ่มขึ้นไปได้สูงถึงประมาณ40องศาเซลเซียส จึงไม่น่าแปลกใจที่การปลูกผักในฤดูร้อนมักประสบกับปัญหาปริมาณและคุณภาพผลผลิตตกต่ำมากกว่าการปลูกผักในฤดูหนาว ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อพิจารณาถึงผลกระทบของสภาวะ

โลกร้อนที่ทำให้อุณหภูมิเฉลี่ยของประเทศไทยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปีจึงมีความเป็นไปได้สูงที่ปัญหาเหล่านี้จะทวีความรุนแรงขึ้นเรื่อยๆ ดังนั้นงานวิจัยเกี่ยวกับผลกระทบของสภาวะอุณหภูมิสูงต่อการเจริญเติบโตของพืชและการศึกษาหนทางแก้ไขทั้งในระยะสั้นและระยะยาวจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการรักษาเสถียรภาพทางการเกษตรของประเทศไทยในอนาคต

มะเขือเทศ *(Solanum lycopersicum)* เป็นพืชผักกินผลที่ผู้คนนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั่วโลก มะเขือเทศเป็นพืชไม้เนื้ออ่อน จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae สูงประมาณ0.5-2.0เมตร ผลมีลักษณะเป็นเบอร์รี่ซึ่งมีกลิ่นและรสชาติดีจึงถูกนำมาใช้ประกอบอาหารในหลายรูปแบบ สายพันธุ์ของมะเขือเทศนั้นมีอยู่มากมาย โดยมีทั้งสายพันธุ์เลื้อยและพุ่ม ผลเล็กและผลใหญ่ ผลสีเหลืองไปจนถึงผลสีม่วงเข้ม สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศนั้นมีความแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ โดยทั่วไปแล้วอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดรวมไปถึงการเจริญเติบโตระยะแรกและระยะการสืบพันธุ์จะอยู่ที่ประมาณ 15.5-30 องศาเซลเซียส(Nonnecke, 1989; Rubatzky and Yamaguchi, 1997) อุณหภูมิที่สูงกว่านี้จะทำให้การงอก การเจริญเติบโตของต้น(Abdelmageed et al., 2009)และความมีชีวิตของละอองเรณูลดลง เช่น มะเขือเทศที่ปลูกที่อุณหภูมิ 32/28 องศาเซลเซียส(กลางวัน/กลางคืน)มีปริมาณของละอองเรณูที่มีชีวิตลดลงถึงประมาณ 60-75% เมื่อเทียบกับต้นที่ปลูกที่อุณหภูมิ 28/22 องศาเซลเซียส (Sato et al., 2006; Pressman et al., 2002) มะเขือเทศมีความสามารถในการทนเค็มพอสมควร ข้อมูลจากงานวิจัยแสดงให้เห็นว่ามะเขือเทศจะให้ผลผลิตตามปรกติได้เมื่อสภาพดินมีค่า EC ไม่เกิน 2 mS แต่ผลผลิตจะเริ่มลดลงโดยเฉลี่ย 10% ของทุกๆ ECที่เพิ่มขึ้น 1.5 mS (Shalhevet and Yaron, 1973) ในส่วนของการงอกนั้นเมล็ดมะเขือเทศจะมีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงและใช้เวลาในการงอกมากขึ้นเมื่อค่าECของวัสดุปลูกสูงเกินกว่า 1 mS และหากค่าECเกินกว่า 3 mS เมล็ดของบางสายพันธุ์จะไม่สามารถงอกได้เลย (Cuartero and Fernandez-Munoz, 1999) การปลูกมะเขือเทศในปัจจุบันเกษตรกรส่วนมากใช้วิธีการเพาะกล้าในโรงเรือนก่อนนำไปลงปลูกในสภาพแปลง โดยต้นกล้าที่ถูกย้ายลงปลูกแล้วอาจมีการฟื้นตัวช้าเนื่องจากสภาพอากาศที่ร้อนจัดหรือสภาพดินที่มีความเค็ม เทคโนโลยีการชักนำให้ต้นกล้ามีความทนทานและสามารถฟื้นตัวได้เร็วในสภาพแปลงจึงจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการปลูกมะเขือเทศ

การแก้ไขปัญหาเรื่องความร้อนและความเค็มด้วยวิธีการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานนั้นถือเป็นวิธีการที่ยั่งยืนแต่มีข้อเสียคือต้องใช้เวลานาน โดยเฉลี่ยแล้วระยะเวลาที่ใช้ในเสาะหาสายพันธุ์ต้านทานหนึ่งสายพันธุ์และการนำลักษณะต้านทานไปผสมเข้ากับสายพันธุ์การค้าที่ต้องการและการทดสอบพันธุ์อาจต้องใช้เวลารวมแล้วไม่ต่ำกว่าห้าปี ดังนั้นการพัฒนาเทคโนโลยีในการเพิ่มความแข็งแรงและความทนทานให้กับต้นมะเขือเทศและพริกที่สามารถปฏิบัติและเห็นผลได้อย่างรวดเร็ว จึงเป็นสิ่งที่ควรดำเนินการควบคู่ไปกับการปรับปรุงพันธุ์ด้วย งานวิจัยจำนวนมากบ่งชี้ว่าการใช้สารไกลซีนเบตาอีนสามารถช่วยลดความเครียดและเพิ่มความแข็งแรงให้กับพืชได้(Ashraf and Foolad, 2007; Chen and Murata, 2002) โดยสารไกลซีนเบตาอีนนั้นมีราคาไม่แพงและไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต (Craig, 2004) อีกทั้งยังพบในความเข้มข้นสูงในเนื้อเยื่อของ

พืชบางชนิด การใช้สารไกลซีนเบตาอีนจึงถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาทดลองใช้สร้างความแข็งแรงให้กับพืชเศรษฐกิจที่ปลูกภายในประเทศไทย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศมีความทนทานและสามารถฟื้นตัวได้อย่างรวดเร็วหลังจากการย้ายลงปลูกในแปลงที่มีสภาพอากาศร้อนจัดหรือดินเค็มจัดโดยวิธีการนี้อาจสามารถประยุกต์ใช้กับพืชอื่นๆได้อีกหลายชนิด
2. เพื่อได้องค์ความรู้เกี่ยวกับสรีรวิทยาและชีวเคมีของความเครียดร้อนและลักษณะทนร้อนในมะเขือเทศ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เทคโนโลยีการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศมีความทนทานและสามารถฟื้นตัวได้อย่างรวดเร็วหลังจากการย้ายลงปลูกในแปลงที่มีสภาพอากาศร้อนจัดหรือดินเค็มจัด
2. องค์ความรู้เกี่ยวกับสรีรวิทยาและชีวเคมีของความเครียดร้อนและลักษณะทนร้อนในมะเขือเทศ

การตรวจเอกสาร

งานทดลองจำนวนมากใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมในการสร้างพันธุ์พืชที่มีการสังเคราะห์GBในปริมาณที่สูงกว่าปกติหรือทำให้สายพันธุ์ที่ดามปกติไม่มีการสร้างGBสามารถสร้างGBได้ โดยมีจุดประสงค์ในการเพิ่มความทนทานของพืชต่อสภาพแวดล้อม(Chen and Murata, 2002) ตัวอย่างเช่น ในต้นยาสูบที่ได้รับการถ่ายยีน choline dehydrogenase และ betaine aldehyde dehydrogenase ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยน choline ให้เป็น GB พบว่าในสภาวะเครียดเกลือ, สภาวะอุณหภูมิต่ำ และสภาวะอุณหภูมิสูง (40-50 องศาเซลเซียส) มีประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงสูงกว่าต้นพันธุ์ป่าที่ไม่สามารถสังเคราะห์GBได้ (Holmstrom et al., 2000; Yang et al., 2007) ในต้นอะราบิดอปซิสที่ได้รับการถ่ายยีนสังเคราะห์เอนไซม์ glycine sacrosine methyltransferase และ dimethylglycine methyltransferase จาก *Aphanothece halophytica* ซึ่งทำหน้าที่ในการสังเคราะห์GBจากไกลซีน พบว่าในสภาวะอุณหภูมิต่ำและสภาวะเครียดเกลือมีเปอร์เซ็นต์การงอกและประสิทธิภาพของการสังเคราะห์แสงสูงกว่าต้นพันธุ์ป่าซึ่งไม่สามารถสังเคราะห์GBได้ (Waditee et al., 2005)

นอกจากวิธีการทางพันธุวิศวกรรมแล้ว การให้GBโดยตรงแก่พืชก็สามารถช่วยให้พืชมีความต้านทานต่อสภาวะเครียดเพิ่มขึ้นได้เช่นกัน ตัวอย่างเช่น ในต้นถั่วแดงที่อยู่ในสภาพขาดน้ำ การให้สารไกลซีนเบตาอีนที่ความเข้มข้น 10 mM สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์แสงได้ (Xing and Rajashekar, 1999) ในเมล็ดข้าวบาร์เล่ย์ซึ่งผ่านการแช่ในสารละลายGBที่ความเข้มข้น20mMเป็นเวลาหนึ่งวัน เมื่อนำมาปลูกในสภาวะความร้อนสูงพบว่ามีน้ำหนักแห้ง, อัตราการสังเคราะห์แสงและความ

สเถียรของเยื่อหุ้มเซลล์สูงกว่าต้นที่เจริญจากเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่GB (Wahid and Shabbir, 2005) ถั่วปากอ้าที่ถูกพ่นด้วยสารGBความเข้มข้น 8.5 μM เมื่อปลูกในสภาวะเครียดออสโมติกและสภาวะร้อนพบว่ามีน้ำหนักแห้ง, ปริมาณคลอโรฟิลล์และความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์สูงกว่าต้นที่ไม่ได้รับGB (Gadallah, 1999) การให้ไกลซีนเบตาอีนแก่ต้นมะเขือโดยการฉีดพ่นทางใบในปริมาณ3.36กิโลกรัมต่อเฮคเตอร์สามารถช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตของต้นมะเขือเทศที่ปลูกในสภาพเครียดเกลือและสภาพอุณหภูมิสูงจาก56.1และ68.7 ตันต่อเฮคเตอร์เป็น91.4และ107.5ตันต่อเฮคเตอร์ตามลำดับ(Makela et al., 1998) นอกจากนี้การให้GBความเข้มข้น 2 mMแก่สตรอเบอร์รี่ทางใบสามารถช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตในสภาวะอุณหภูมิต่ำได้(Rajashekar et al., 1999) ผลการทดลองเหล่านี้เป็นหลักฐานที่ยืนยันว่าGBสามารถเพิ่มความต้านทานของพืชต่อสภาวะเครียดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

GBนั้นปลอดภัยต่อมนุษย์และเป็นส่วนประกอบในอาหารเสริมหลายชนิด(Craig, 2004) ราคาของGBเริ่มต้นอยู่ที่ประมาณกิโลกรัมละ 916 บาท(http://purebulk.com หากสั่งซื้อเป็นจำนวนมากราคาจะอยู่ที่ประมาณกิโลกรัมละ 500 บาทเท่านั้น) การใช้ GB ตามปกติจะอยู่ในความเข้มข้นประมาณ 1-20 mM ซึ่งเท่ากับประมาณ 0.117-2.34 กรัมต่อลิตร (betaine anhydrous mw = 117.15)ดังนั้นหนึ่งกิโลกรัมสามารถใช้ละลายในน้ำได้ประมาณ 8547-427.35 ลิตร เมื่อคำนวณค่าใช้จ่ายจึงน่าจะอยู่ที่ประมาณ 0.1-2.1 บาทต่อลิตร ซึ่งน่าจะคุ้มค่ากับการลงทุนหากไม่ใช้ในปริมาณที่สูงหรือถี่จนเกินไป

พืชบางชนิดมีปริมาณสารไกลซีนเบตาอีนในเนื้อเยื่อสูง เช่น ในบีทรูทและผักปวยเล้งพบว่ามีปริมาณของสารไกลซีนเบตาอีนสูงถึง 750และ 740ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดตามลำดับ(de Zwart et al., 2003) โดยหากคำนวณความเข้มข้นของสารภายในเนื้อเยื่อจะได้อยู่ที่ประมาณ6 mMและหากชักนำให้พืชอยู่ในสภาวะเครียดเช่น ขาดน้ำหรือสภาพเค็มจัดก็จะทำให้ปริมาณไกลซีนเบตาอีนเพิ่มสูงขึ้นกว่าเดิมได้อีก2-5เท่าตัวซึ่งน่าจะเพียงพอสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ ทั้งบีทรูทและผักปวยเล้งเป็นผักที่สามารถปลูกและหาซื้อได้ง่ายในหลายพื้นที่ของประเทศไทยจึงถือเป็นแหล่งของสารไกลซีนเบตาอีนที่สะดวกต่อการนำมาใช้ประโยชน์ นอกจากนี้ไกลซีนเบตาอีนนั้นเป็นสารที่ละลายน้ำได้ดีวิธีการสกัดจึงสามารถทำได้ง่าย โดยใช้เพียงการปั่นเนื้อเยื่อให้ละเอียดในน้ำสะอาด ก็น่าที่จะได้น้ำสกัดจากทั้งบีทรูทและผักโขมที่สามารถนำไปใช้แช่เมล็ดหรือฉีดพ่นเพื่อลดความเครียดให้กับพืช

อุปกรณ์และวิธีการ

<u>การทดสอบเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดในสภาวะเครียด</u>

ใช้การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ หรือ complete randomized design (CRD) ใช้เมล็ดของมะเขือเทศสามสายพันธุ์ 1. พันธุ์ลูกท้อ (OP, เจียไต๋) 2. พันธุ์สีดา (OP, เจียไต๋) 3. พันธุ์สันทราย (OP, มหาวิทยาลัยแม่โจ้) นำมาทดสอบเปอร์เซ็นต์การงอกภายใต้สภาวะเค็มและสภาวะอุณหภูมิสูง โดยก่อนนำไปทดสอบเมล็ดถูกแช่ 1 คืนในสารละลายGBความเข้มข้นระดับต่ำ (0.1 0.25 และ 0.5 mM)ซึ่งอ้างอิงมาจากงานของLi et al. (2011) และระดับสูง(5 10 20 mM) ซึ่งอ้างอิงมาจากงานของ Wahid and Shabbir

(2005) ก่อนจะนำไปทดสอบความงอกในสภาวะอุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส และสภาวะเค็มที่มีค่าความเข้มข้นของเกลือNaCl 10,000 ppmเป็นเวลา 7 วัน แล้ว เก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์การงอก น้ำหนัก ค่าการรั่วไหลของไอออนและปริมาณคลอโรฟิลล์ในแต่ละตำรับ

นอกจากนี้ยังทำการทดสอบแช่เมล็ดในน้ำคั้นจากบีทรูทและผักปวยเล้งซึ่งเป็นพืชที่มีการสะสมสารไกลซีนเบตาอีนในปริมาณสูง(de Zwart et al., 2003) เพื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดในสภาวะเครียด โดยใช้เมล็ดของมะเขือเทศ นำไปแช่ในสารละลาย 4 ตำรับคือ 1. น้ำเปล่า (ตัวควบคุม) 2. น้ำสกัดจากบีทรูท 3. น้ำสกัดจากผักปวยเล้ง 4. น้ำสกัดจากผักสลัด (ตัวควบคุมทางลบ) เนื่องจากรายงานการวิจัยระบุว่าผักสลัดมีไกลซีนเบตาอีนน้อยกว่าบีทรูทและผักปวยเล้งประมาณ 75 เท่า (de Zwart et al., 2003) การทดลองนี้จึงใช้ผักสลัดเป็นตัวควบคุมทางลบ เมล็ดมะเขือเทศจะถูกแช่ในสารละลายทั้ง4ตำรับเป็นเวลา 2 วันก่อนนำไปทดสอบเปอร์เซ็นต์การงอกภายใต้สภาวะเค็มและสภาวะอุณหภูมิสูง

<u>การทดสอบความแข็งแรงของต้นกล้าในสภาวะเครียด</u>

นอกจากวิธีการแช่เมล็ดในสารละลายแล้ว ใช้การการรดสารละลายไกลซีนเบตาอีนที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม(อ้างอิงจากผลการทดลองแรก)ให้แก่ต้นกล้ามะเขือเทศสามสายพันธุ์อายุ 18 วันซึ่งถูกปลูกภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ(25 องศาเซลเซียส)และแสง (ประมาณ 100 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ สว่าง 16 ชั่วโมง มืด 8ชั่วโมง) เป็นเวลาสามอาทิตย์ ใช้การวางแผนการทดลองแบบ CRD ให้สารละลายGBเป็นเวลา 1 วันก่อนจะย้ายต้นกล้าไปอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง 35±2 องศาเซลเซียส และสภาวะเค็มที่มีค่าความเข้มข้นของเกลือNaCl 10,000 ppm และจะทำการทดสอบความทนทานของต้นกล้าหลังจากย้ายเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยดัชนีที่ใช้ชี้วัดความทนทานได้แก่ น้ำหนักสด ปริมาณคลอโรฟิลล์ ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน

<u>ค่าความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์</u>

เยื่อหุ้มเซลล์ทำหน้าที่เป็นเยื่อเลือกผ่านและเป็นที่อยู่ของโปรตีนจำนวนมากซึ่งควบคุมการผ่านเข้าออกและรักษาสมดุลของไอออนชนิดต่างๆภายในเซลล์ (Buchanan et al., 2000) สภาวะเครียดเช่น สภาวะอุณหภูมิสูงและสภาวะเค็มเหนี่ยวนำให้มีการเพิ่มของปริมาณอนุมูลอิสระซึ่งสร้างความเสียหายให้กับเยื่อหุ้มเซลล์ได้เนื่องจากไขมันภายในเยื่อหุ้มเซลล์สามารถถูกออกซิไดซ์ (เรียกกระบวนการนี้ว่า ลิปิดเปอร์อกซิเดชั่น (lipid peroxidation))และทำให้เกิดการรั่วไหลของไอออนจากภายในสู่ภายนอกจนทำให้เซลล์ตายได้ในที่สุด (Liu and Huang, 2000; Larkindale and Knight, 2002; Camejo et al., 2005) ด้วยเหตุนี้คุณลักษณะทนทานต่อความเครียดของพืชแต่ละสายพันธุ์นั้นส่วนหนึ่งจึงขึ้นอยู่กับเสถียรภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งถูกกำหนดโดยชนิดและสัดส่วนของไขมันที่เป็นส่วนประกอบภายในเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวมีแนวโน้มแปรผันตรงกับลักษณะการทนร้อน (Iba, 2002) นอกจากนี้เสถียรภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ในสภาวะเครียดอีกส่วนหนึ่งยังขึ้นอยู่กับความสามารถของเซลล์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย ดังนั้นความเสถียรของเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งถูกบ่งชี้โดยปริมาณการรั่วไหลของไอออนจึงสามารถถูกใช้เป็นดัชนีชี้วัดการบาดเจ็บของเนื้อเยื่ออันมีสาเหตุมาจากความเครียดได้ โดยการวัดการรั่วไหลของไอออนนั้นสามารถทำได้ง่ายและรวดเร็ว โดยใช้การนำตัวอย่างเนื้อเยื่อของพืชมาบ่มในสภาวะอุณหภูมิสูงหรือสภาวะเค็มเป็น

ระยะเวลาหนึ่งแล้ววัดปริมาณการรั่วไหลของไอออนจากเนื้อเยื่อผ่านทางการวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย ซึ่งปริมาณการรั่วไหลของไอออนนี้มีความสัมพันธ์ในทางตรงกันข้ามกับความทนทานต่อสภาวะเครียดของพืช(Sullivan, 1972)

การวัดเปอร์เซนต์การรั่วไหลของไอออนจะใช้การประยุกต์วิธีการของMarcum(1998)โดยใช้ตัวอย่างใบของต้นมะเขือเทศจากtreatmentต่างๆใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นล้างน้ำ doulble deionized (dd)สามครั้งก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ50องศาเซลเซียสเป็นเวลาประมาณ 10-50 นาที(ต้องทำการทดลองหาเวลาที่เหมาะสมก่อน)หรือสารละลายเกลือเข้มข้น 10,000 ppm ข้ามคืน จากนั้นใส่น้ำ dd ที่อุณหภูมิ25 องศาเซลเซียสลงไป10 mlแล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสเป็นเวลาหนึ่งคืนก่อนจะนำมาเขย่าเล็กน้อยแล้ววัดค่า EC จากนั้นนำหลอดทดลองไปautoclave(ที่121องศาเซลเซียส)เป็นเวลา 15 นาทีก่อนนำมาวัดค่าEC อีกครั้ง นำค่าECที่วัดครั้งแรกและครั้งที่สองมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนโดยใช้สูตร: ปริมาณไอออนที่รั่วไหลครั้งแรก/ปริมาณไอออนทั้งหมด x 100% = เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในสภาวะอุณหภูมิสูง โดยค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนที่ได้จะแปรผกผันกับความทนทานของพืช

<u>การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์</u>

สภาวะเครียด เช่น สภาวะขาดน้ำและสภาวะเครียดเกลือ ชักนำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชมีการลดลง(Lutts et al., 1996; Alberte et al., 1977) เนื่องจากคลอโรฟิลล์มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการสังเคราะห์แสง ปริมาณคลอโรฟิลล์จึงถูกใช้เป็นดัชนี ชี้วัดความเครียดของพืช (Penuelas and Filella, 1998; Zarco-Tejada et al., 2002) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงจะใช้ปริมาณคลอโรฟิลล์เป็นตัวชี้วัดความทนทานของต้นกล้ามะเขือเทศที่ได้รับสารไกลซีนเบตาอีนต่อสภาวะอุณหภูมิสูงและสภาวะเค็ม

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์จะใช้วิธีการตาม Richardson et al., 2001 โดยตัวอย่างใบพืชจะถูกตัดออกเป็นวงกลมขนาดเท่ากันๆ นำไปใส่ในหลอดแก้วซึ่งมี Dimethyl Sulfoxide (DMSO) แล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 65 องศาเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นหลอดแก้วจะถูกนำออกจากอ่างควบคุมอุณหภูมิ แล้วเติมด้วย DMSO อีก 3 ml รวมเป็นสารละลายในหลอดแก้ว 10 ml จากนั้นสารละลายจะถูกนำไปวัดปริมาณคลอโรฟิลล์โดยใช้ spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 nm ปริมาณคลอโรฟิลล์จะถูกคำนวนโดยใช้สูตรดังนี้:

$$\text{Chlorophyll a(g/l)} = 0.0127\ A_{663} - 0.00269\ A_{645}$$

$$\text{Chlorophyll b(g/l)} = 0.0229\ A_{645} - 0.00468\ A_{663}$$

<u>การวัดค่าการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ การนำของปากใบ การระเหยของน้ำจากใบ อัตราการดูดซึมคาร์บอนไดออกไซด์</u>

การวัดการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ใช้เครื่อง Fluorescence Monitoring System รุ่น FMS2 ของบริษัท Hansatech ในการวัด ค่า Fv/Fm ค่าΦ_{PSII} (Psi PSII) ส่วนการระเหยของน้ำจากใบและการดูดซึมคาร์บอนไดออกไซด์นั้นจะทำโดยใช้เครื่อง LCi-SD ของบริษัท BioScientific Ltd. ซึ่งยืมจากศูนย์เครื่องมือ IQS ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การวิเคราะห์สถิติ

ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี ANOVA และ t-test เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างtreatment

ผลการวิจัย

การทดลองเบื้องต้นโดยการแช่เมล็ดมะเขือเทศในสารละลายไกลซีนเบตาอีน

การทดลองในขั้นแรกเป็นการหาความเข้มข้นของไกลซีนเบตาอีน(GB) ที่เหมาะสมในการชักนำให้การงอกของเมล็ดมะเขือเทศสามสายพันธุ์กล่าวคือ พันธุ์ลูกท้อ สันทรายและสีดา ทนทานต่อความร้อน(35±2°C)และความเค็ม (เกลือแกง 10,000 ppm) โดยใช้การแช่เมล็ดลงในสารละลายGBความเข้มข้นสองระดับคือระดับต่ำ(0.1 0.25 0.5 mM)ซึ่งอ้างอิงมาจากงานของLe et al. (2011) และระดับสูง(5 10 20 mM)ซึ่งอ้างอิงมาจากงานของ Wahid and Shabbir (2005)

ในพันธุ์ลูกท้อพบว่าภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง GB ที่ความเข้มข้นสูง 5 และ 10 mM สามารถชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเพิ่มขึ้นจาก 80% เป็น 98 และ 84%ได้ตามลำดับ(รูปที่ 1ก และ ข) ส่วนในสภาวะเค็ม GB ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.5 mM ชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มขึ้นจาก 64% เป็น 76% และGBที่ความเข้มข้นสูง 5 และ 10 mM สามารถชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มจาก 52% เป็น 58 และ 60% ได้ตามลำดับ (รูปที่ 2ก และ ข)

ในพันธุ์สันทรายพบว่าภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง GB ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.25 และ 0.5 mM สามารถชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเพิ่มขึ้นจาก 90% เป็น 94 และ 98%ได้ตามลำดับและGBที่ความเข้มข้นสูง 5 mM สามารถชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเพิ่มขึ้นจาก 94% เป็น 98% ได้ (รูปที่ 1ก และ ข) ส่วนในสภาวะเค็ม GB ที่ความเข้มข้นสูง 5 และ 10 mM ชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มขึ้นจาก 32% เป็น 52 และ 38ได้ตามลำดับ (รูปที่ 2ก และ ข)

ในพันธุ์สีดาพบว่าภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง GB ไม่สามารถชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มสูงขึ้นได้ (รูปที่ 1ก และ ข) ส่วนในสภาวะเค็ม GB ที่ความเข้มข้นต่ำ 0.25 mM ชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มขึ้นจาก 30% เป็น 46% ได้และGBที่ความเข้มข้นสูง 5 10 และ 20 mM ชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มขึ้นจาก 8 % เป็น 38 38 และ 24% ได้ตสมลำดับ (รูปที่ 2ก และ ข)

การทดลองแช่เมล็ดมะเขือเทศในน้ำคั้นผักที่มีปริมาณไกลซีนเบตาอีนสูง

ผักปวยเล้งและบีทรูทมีปริมาณของGBสูงถึงประมาณ 750 µg ต่อ 1 g น้ำหนักสด (de Zwart et al., 2003) ด้วยเหตุนี้จึงทำการทดลองใช้น้ำคั้นผักเหล่านี้ในการแช่เมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สันทรายเพื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกในสภาวะเค็มและอุณหภูมิสูง น้ำคั้นผักสลัดถูกใช้เป็นตัวควบคุมทางลบเนื่องจากมีงานวิจัยระบุว่าผักสลัดมี GB ต่ำกว่าปวยเล้งและบีทรูท 75 เท่า จากการทดลองแช่เมล็ดหนึ่งคืนในน้ำคั้นพบว่าไม่ได้ให้ผลแตกต่างจากการแช่เมล็ดในน้ำเปล่า (ไม่ได้แสดงข้อมูล) จึงทำการทดลองอีกครั้งโดย

ยืดเวลาการแช่เมล็ดออกเป็นเวลาสามวัน พบว่าในสภาวะเค็มการแช่เมล็ดในน้ำคั้นบีทรูทให้เปอร์เซ็นต์การงอกที่ 14 วันสูงที่สุดคือ 8 %ในขณะที่เมล็ดที่แช่ในน้ำเปล่าไม่มีการงอกเลย (รูปที่ 3ก) ส่วนในสภาวะอุณหภูมิสูงพบว่าแมล็ดที่แช่ในน้ำเปล่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 7 วันสูงที่สุดคือ 52 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามพบว่าที่ 14 วันเมล็ดที่แช่ในน้ำคั้นบีทรูทให้มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดคือ 92 % รองลงมาคือน้ำคั้นจากผักปวยเล้ง 76 % ในขณะที่เมล็ดที่แช่ในน้ำคั้นสลัดและน้ำเปล่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกเพียง 58 และ 60% ตามลำดับ (รูปที่ 3ข)

<u>การทดลองซ้ำโดยการแช่เมล็ดมะเขือเทศในสารละลายไกลซีนเบตาอีน</u>

ผลการทดลองในส่วนแรกแสดงให้เห็นว่าการแช่เมล็ดในสารละลาย GB ในความเข้มข้นที่เหมาะสมสามารถชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเพิ่มสูงขึ้นได้ในสภาวะอุณหภูมิสูงและเค็ม จึงเลือกเอาความเข้มข้นที่ให้ผลดีที่สุดในทุกสายพันธุ์จากการทดลองแรกกล่าวคือ 0.25 0.5 และ 5 mM มาทำซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลองอีกครั้ง โดยครั้งนี้ในแต่ละตำรับความเข้มข้นของ GB ทำซ้ำจำนวน 3 ซ้ำ และมีการเก็บข้อมูลทางสรีรวิทยาอื่นเพิ่มเติม

-<u>พันธุ์ลูกท้อ</u>

ในเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อที่งอกภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงพบว่า GB ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 5 mM สามารถชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่ 7 วันเพิ่มขึ้นจาก 57% เป็น 71 และ 77%ได้ตามลำดับ (รูปที่ 4) ในต้นกล้าที่งอกพบว่าน้ำหนักสดของต้นกล้าอายุ 14 วันที่เจริญจากเมล็ดที่แช่ในGB ทั้งหมดสูงกว่าน้ำหนักสดของต้นควบคุมที่ไม่ได้รับ GB อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 5) อย่างไรก็ตามปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีในเนื้อเยื่อใบของต้นกล้าที่ได้รับ GB นั้นไม่ได้เพิ่มขึ้นตามน้ำหนักสดแต่น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญในต้นกล้าที่แช่ใน GB 0.25 และ 5 mM (รูปที่ 7 และ 8) นอกจากนี้ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในต้นกล้าที่ได้รับ GB ในทุกความเข้มข้นยังน้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับ GB อย่างมีนัยสำคัญด้วย(รูปที่ 6)

ในเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อที่งอกภายใต้สภาวะเค็มพบว่า GB ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 5 mM ชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่ 7 วันเพิ่มขึ้นจาก 53% เป็น 79 และ 75% ได้ตามลำดับ (รูปที่ 9) ในต้นกล้าที่งอกพบว่าน้ำหนักสดของต้นกล้าอายุ 14 วันที่เจริญจากเมล็ดที่แช่ใน GB 0.5 และ 5 mM สูงกว่าน้ำหนักสดของต้นควบคุมที่ไม่ได้รับ GB อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 10) ปริมาณของคลอโรฟิลล์ก็เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน ในต้นที่ได้รับ GB ความเข้มข้น 0.25 0.5 mM (คลอโรฟิลล์เอ) 0.5 และ 5 mM (คลอโรฟิลล์บี) (รูปที่ 12 และ 13) ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนพบว่าต้นที่ได้รับ GB ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับต้นควบคุม ยกเว้นต้นที่ได้รับ GB 0.5 mM ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนสูงกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 11)

-<u>พันธุ์สันทราย</u>

ในเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สันทรายที่งอกภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงพบว่า GB ไม่ได้ช่วยให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 7 วันสูงขึ้นหรือทำให้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 4) ในต้นกล้าที่งอกพบว่า

น้ำหนักสดของต้นกล้าอายุ 14 วันที่เจริญจากเมล็ดที่แช่ใน GB 0.5 และ 5 mM สูงกว่าน้ำหนักสดของต้นควบคุมที่ไม่ได้รับ GB อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 5) ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์พบว่าต้นกล้าที่ได้รับ GB 0.25 mM มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีมากกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 7 และ 8) นอกจากนี้พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในต้นกล้าที่ได้รับ GB ความเข้มข้น 5 m น้อยกว่าต้นที่ไม่ได้รับ GB อย่างมีนัยสำคัญด้วย (รูปที่ 6)

ในเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สันทรายที่งอกภายใต้สภาวะเค็มพบว่า GB ที่ความเข้มข้น 5 mM ชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่ 7 วันเพิ่มขึ้นจาก 66% เป็น 85% ได้ตามลำดับ (รูปที่ 9) ในต้นกล้าที่งอกพบว่าน้ำหนักสดของต้นกล้าอายุ 14 วันที่เจริญจากเมล็ดที่แช่ในGB 5 mM สูงกว่าน้ำหนักสดของต้นควบคุมที่ไม่ได้รับ GB อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 10) ส่วนปริมาณของคลอโรฟิลล์พบว่าต้นที่ได้รับ GB ความเข้มข้น 5 mM มีปริมาณคลอโรฟิลล์บีสูงกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 12 และ 13) ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนพบว่าต้นที่ได้รับ GB 0.25 และ 0.5 mM มีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนน้อยกว่าต้นควบคุม แต่ต้นที่ได้รับ GB 5 mM มีค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนสูงกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 11)

-<u>พันธุ์สีดา</u>

ในเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาที่งอกภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงพบว่า GB ไม่ได้ช่วยให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ 7 วันสูงขึ้นแต่อย่างใด (รูปที่ 4) ในต้นกล้าที่งอกพบว่าน้ำหนักสดของต้นกล้าอายุ 14 วันที่เจริญจากเมล็ดที่แช่ใน GB 0.5 และ 5 mM สูงกว่าน้ำหนักสดของต้นควบคุมที่ไม่ได้รับ GB อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 5) ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์พบว่าต้นกล้าที่ได้รับ GB 0.25 mM มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีมากกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 7 และ 8) ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนพบว่าต้นที่ได้รับ GB ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับต้นควบคุม ยกเว้นต้นที่ได้รับ GB 5 mM ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนต่ำกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 6)

ในเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาที่งอกภายใต้สภาวะเค็มพบว่า GB ไม่ได้ช่วยให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงขึ้น (รูปที่ 9) ในต้นกล้าที่งอกพบว่าน้ำหนักสดของต้นกล้าอายุ 14 วันที่เจริญจากเมล็ดที่แช่ใน GB 5 mM สูงกว่าน้ำหนักสดของต้นควบคุมที่ไม่ได้รับ GB อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 10) ส่วนปริมาณของคลอโรฟิลล์พบว่าต้นที่ได้รับ GB ความเข้มข้น 0.25 mM มีปริมาณคลอโรฟิลล์บีสูงกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 12 และ 13) ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนพบว่าต้นที่ได้รับ GB 5 mM มีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนสูงกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 11)

<u>การทดลองให้ไกลซีนเบตาอีนแก่ต้นกล้าอายุ 18 วัน</u>

นอกจากการทดลองแช่เมล็ดใน GB แล้วยังได้ทำการทดลองให้ GB แก่ต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ F1 (บริษัทศรแดง) และ สีดา อายุ 18 วันในรูปของสารละลายความเข้มข้น 1 mM ก่อนจะให้ต้นกล้าอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูงและเค็มจัดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการให้ GB ไม่ได้ช่วยให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้ามะเขือเทศเพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 14 และ 15)

อย่างไรก็ตามการให้ GB ช่วยให้เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในต้นกล้าที่อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูงและสภาวะเค็มทุกสายพันธุ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นเพียงพันธุ์ F1 ในสภาวะเค็มเท่านั้นซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนไม่แตกต่างจากตัวควบคุม (รูปที่ 16)

เมื่อพบว่าวิธีการให้ GB ความเข้มข้น 1 mM แก่ต้นกล้าอายุ 18 วันไม่ได้ให้ผลดีในแง่ของการเจริญเติบโตเท่าที่ควรจึงทำการทดลองอีกครั้งโดยใช้ความเข้มข้น GB ที่สูงขึ้นกล่าวคือ 2.5 และ 5 mM โดยในครั้งนี้ทำการทดลองในพันธุ์ลูกท้อเพียงพันธุ์เดียวและมีการเก็บข้อมูลทางสรีรวิทยาอื่นๆร่วมด้วยเพื่อทำความเข้าใจถึงกลไกการทำงานของ GB ในการบรรเทาความเครียดให้แก่ต้นกล้ามะเขือเทศ

จากการทดลองพบว่าในสภาวะอุณหภูมิสูงการให้ GB 2.5 mM แก่ต้นกล้ามะเขือเทศทำให้น้ำหนักสด ค่าการนำของปากใบ (gs) และค่าประสิทธิภาพสูงสุดในการทำงานของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 17 19 และ 21 ตามลำดับ) ในขณะที่อัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (A) และค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองในสภาวะมีแสง (ØPSII) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับตัวควบคุม (รูปที่ 18 และ 20 ตามลำดับ) ส่วนในสภาวะเค็มพบว่าการให้ GB 2.5 และ 5 mM แก่ต้นกล้ามะเขือเทศทำให้น้ำหนักสด เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 17) ในขณะที่ค่า A gs ØPSIIและ Fv/Fm ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับตัวควบคุม (รูปที่ 18 19 20 และ 21 ตามลำดับ)

วิจารณ์ผลการทดลอง

สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ดินเค็มและอุณหภูมิสูง มีผลชักนำให้พืชเกิดความเครียดและทำให้ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตทางการเกษตรลดลง แนวทางการแก้ไขที่ยั่งยืนที่สุดคือการปรับปรุงพันธุ์ให้มีความทนทานต่อสภาวะเหล่านี้ ซึ่งเป็นแนวทางที่ต้องใช้เวลายาวนาน ดังนั้นการพัฒนาเทคโนโลยีที่ช่วยให้พืชมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมและสามารถประยุกต์ใช้ได้ในพืชหลายชนิด จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เทคโนโลยีการใช้สาร GB เพื่อชักนำให้พืชทนทานต่อความเครียดรูปแบบต่างๆได้รับความสนใจอย่างมากในช่วง20ปีที่ผ่านมา เห็นได้จากจำนวนงานวิจัยที่เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ (Makela et al., (1998); Gadallah, (1999); Rajashekar et al., (1999); Xing and Rajashekar, (1999); Wahid and Shabbir, (2005)) งานวิจัยในครั้งนี้จึงต้องการทดสอบประสิทธิภาพของสาร GB ในการชักนำให้มะเขือเทศสายพันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศไทยทนทานต่อสภาวะเค็มและสภาวะอุณหภูมิสูง

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการแช่เมล็ดใน GB ที่ความเข้มข้นประมาณ 0.25-5 mM เป็นเวลาหนึ่งคืนสามารถชักนำให้เปอร์เซ็นต์การงอกของมะเขือเทศบางสายพันธุ์ในสภาวะเครียดเพิ่มสูงขึ้นได้ (รูปที่ 4 และ 9) ทั้งนี้สายพันธุ์ที่ตอบสนองต่อ GB ได้ดีที่สุดคือพันธุ์ลูกท้อ และที่ไม่ตอบสนองต่อ GB เลยคือพันธุ์สีดา นอกจากนี้พบว่าต้นกล้าที่เจริญเติบโตจากเมล็ดที่ผ่านการแช่ GB มีน้ำหนักสดมากกว่าต้นควบคุมในหลายกรณี (รูปที่ 5 และ 10) แสดงให้เห็นว่า GB ช่วยให้ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นในสภาวะเครียดเกลือและร้อน อย่างไรก็ตามในบางกรณีพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบนั้นมีต่ำกว่าต้นควบคุม (รูปที่ 7 8 12 และ 13) ดังนั้นน้ำหนักสดที่เพิ่มขึ้นอาจเกิดจากการที่เซลล์มีการสะสมน้ำในปริมาณที่สูงกว่าต้นควบคุมและ

ไม่ได้เกิดจากการจำนวนเซลล์ที่มีมากกว่า ข้อมูลนี้สอดคล้องกับสมมุติฐานเกี่ยวกับหน้าที่ของสารคอมแพททิเบิลโซลูท โดยสารกลุ่มนี้เมื่ออยู่ในเซลล์ในปริมาณสูงอาจช่วยลดค่าศักย์ของน้ำภายในเซลล์ให้ลดลง ส่งผลให้เซลล์สามารถกักเก็บน้ำไว้ได้ดีขึ้นในสภาวะเครียด (Chen and Murata, (2002); Ashraf and Foolad, (2007))

ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนนั้นมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณอนุมูลอิสระภายในเซลล์ โดยเมื่อปริมาณอนุมูลอิสระมีมาก ไขมันซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์ก็อาจถูกออกซิไดซ์และสร้างความเสียหายให้กับเยื่อหุ้มเซลล์จนเกิดการรั่วไหลของไอออนได้(Campos et al., (2003); Lutts et al., (1996)) รายงานบางชิ้นระบุว่า GB มีคุณสมบัติในการขจัดอนุมูลอิสระได้ (Banu et al., 2010) จึงอาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ GB ช่วยรักษาเสถียรภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ได้ สำหรับในการทดลองครั้งนี้พบว่าในสภาวะร้อนการแช่เมล็ดใน GB มีแนวโน้มทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนลดลง ซึ่งอาจบ่งชี้ว่า GB ช่วยสร้างเสถียรภาพให้กับเยื่อหุ้มเซลล์ในสภาวะอุณหภูมิสูงได้ ส่วนในสภาวะเค็มพบว่าการแช่เมล็ดใน GB มีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนในแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันออกไป ในพันธุ์สันทรายพบว่า GB ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 mM สามารถช่วยรักษาเสถียรภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ได้ แต่ในพันธุ์ลูกท้อและสีดา GB ใช้ไม่ได้ผล (รูปที่ 6 และ 11) นอกจากนี้ในกรณีของเมล็ดที่แช่ใน GB 5 mM นั้นพบว่าค่ามีการเพิ่มสูงขึ้นในทุกสายพันธุ์ ข้อมูลนี้อาจชี้ให้เห็นว่า GB ที่ระดับ 5 mM อาจสูงเกินไปสำหรับการชักนำให้มะเขือเทศทนเค็ม กลไกการทำงานของ GB ในการช่วยรักษาเสถียรภาพให้กับเยื่อหุ้มเซลล์พืชในการทดลองนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่มีความเป็นไปได้ว่าอาจเกิดจากความสามารถของ GB ในการขจัดอนุมูลอิสระ ดังนั้นในอนาคตหากมีการเก็บข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับปริมาณอนุมูลอิสระเพิ่มเติม เช่น ค่าปริมาณไฮโดรเจนเพอร์อกไซด์หรือค่าปริมาณ Malondialdehyde ในเนื้อเยื่อก็อาจทำให้เข้าใจกลไกการทำงานของ GB ได้ดีขึ้น

การใช้เมล็ดแช่ในน้ำคั้นผักที่มีปริมาณ GB สูงนั้นถือว่าได้ผลดีพอสมควรในการชักนำให้เมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สันทรายมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงขึ้นในสภาวะอุณหภูมิสูง โดยจะเห็นว่าเมล็ดที่แช่ในน้ำคั้นผักปวยเล้งและบีทรูท (ทั้งสองชนิดมีปริมาณ GB ในเนื้อเยื่อสูงตามรายงานของ de Zwart et al., 2003) มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าตัวควบคุมและ น้ำคั้นจากผักสลัด (มี GB ต่ำกว่าผักปวยเล้งและบีทรูท 75 เท่าตามรายงานของ de Zwart et al., 2003) (รูปที่ 3ก และ 3ข) ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการที่เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงขึ้นน่าจะเกิดจากสาร GB ที่อยู่ภายในน้ำคั้นและไม่ได้เกิดจากสารอินทรีย์อื่นๆเช่น แป้ง น้ำตาล หรือคลอโรฟิลล์ ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในน้ำคั้นผักเกือบทุกชนิด ส่วนในสภาวะเค็มนั้นพบว่าได้ผลไม่ดีมากนักเนื่องจากโดยรวมแล้วเมล็ดมีอัตราการงอกน้อยมาก สาเหตุหนึ่งอาจเป็นเพราะการแช่ในน้ำและสารละลายเป็นเวลานานถึงสามวัน อาจมีผลทำให้เมล็ดมะเขือเทศมีการกักเก็บน้ำไว้มาก เมื่อนำมาเพาะในสารละลายเกลือจึงทำให้ความแตกต่างของค่าศักย์ของน้ำระหว่างภายในเซลล์และภายนอกเซลล์มีสูง เซลล์จึงมีการสูญเสียน้ำในอัตราที่รวดเร็วและอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เมล็ดมีความอ่อนไหวต่อสภาวะเค็มมากขึ้นกว่าปกติ อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญของการใช้น้ำคั้นผักคือ น้ำคั้นเหล่านี้เน่าเสียได้ง่ายและไม่สามารถเก็บ

ไว้ได้นาน การใช้งานจึงอาจไม่สะดวกนัก อีกทั้งการแช่เมล็ดมะเขือเทศเป็นเวลานานถึงสามวันนั้นอาจทำให้น้ำค้นรวมไปถึงเมล็ดมีการเน่าเสียได้ง่าย หนทางการแก้ไขคืออาจต้องใช้การฆ่าเชื้อน้ำค้นเหล่านี้ก่อนนำไปเก็บหรือใช้งาน แต่ข้อจำกัดที่สำคัญคือ สาร GB นั้นสลายตัวได้ง่ายในความร้อน ดังนั้นวิธีการที่เหมาะสมคืออาจต้องใช้การกรองผ่านกระดาษกรองที่มีความละเอียดสูงซึ่งยุ่งยากพอควร

นอกจากการแช่เมล็ดแล้ว ยังทดลองให้ GB พร้อมกับสารละลายปุ๋ย Hoagland ความแข็งข้น 0.5 เท่าแก่ต้นกล้ามะเขือเทศก่อนนำไปปลูกในสภาวะเครียดอุณหภูมิสูงและสภาวะเค็มจัด การทดลองในเบื้องต้นใช้ความเข้นของ GB 1 mM เนื่องจากในการทดลองแรกพบว่าความเข้มข้นของ GB ที่เหมาะสมสำหรับมะเขือเทศอยู่ประมาณ 0.25-5 mM ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในสภาวะอุณหภูมิสูงและสภาวะเค็มจัด GB ที่ 1 mM ไม่ได้ช่วยชักนำให้ต้นกล้ามีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นหรือลดลง แต่ช่วยให้ปริมาณการรั่วไหลของไอออนลดลงในทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบ (รูปที่ 14 15 และ 16) ดังนั้น GB ที่ความเข้มเข้น 1 mM จึงอาจยังไม่ใช่ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด จึงทำการทดลองซ้ำอีกครั้งโดยใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่าเดิมคือ 2.5 และ 5 mM พบว่า GB ในความเข้มข้นระดับนี้ช่วยให้น้ำหนักสดของต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 17) ดังนั้นการ GB ที่ความเข้มข้น 2.5 -5 mM จึงน่าจะเหมาะสมสำหรับวิธีการให้ GB แก้ต้นกล้ามะเขือเทศในรูปของสารละลายเพื่อชักนำให้มะเขือเทศมีความทนทานต่อสภาวะเครียด

เพื่อทำความเข้าใจกลไกการชักนำให้พืชทนทานต่อสภาวะอุณหภูมิสูงและสภาวะเค็มโดยสาร GB จึงทำการวัดดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสง โดยพบว่าอัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ ค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองในสภาวะมีแสง (รูปที่ 18 และ 20) ไม่มีความแตกต่างกับตัวควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ค่าการนำของปากใบและค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สองมีความแตกต่าง (รูปที่ 19 และ 21) การเพิ่มขึ้นของค่าการนำของปากใบในการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Makela et al. (1999) และYang and Lu (2006) ที่แสดงให้เห็นว่าการให้ GB มีผลทำให้ค่าการนำของปากใบสูงขึ้นกว่าปกติในสภาวะเครียด นี่อาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ GB สามารถบรรเทาความเครียดให้กับพืชได้ เพราะค่าการนำของปากใบนั้นเป็นดัวบ่งชี้ความสามารถในการผ่านเข้าออกของน้ำและคาร์บอนไดออกไซด์โดยผ่านทางปากใบ ใบพืชที่มีค่าการนำของปากใบสูงจึงอาจมีการระบายความร้อนออกจากใบได้ดีกว่าปกติ ทำให้โปรตีนและกระบวนการต่างๆ โดยเฉพาะกระบวนการสังเคราะห์แสงที่เกิดขึ้นในเซลล์ใบได้รับผลกระทบจากสภาวะอุณหภูมิสูงน้อยลง ข้อสมมุติฐานนี้สอดรับกับค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สองในต้นมะเขือเทศที่ได้รับ GB ซึ่งมีค่าสูงกว่าต้นควบคุม

โดยภาพรวมแล้ว GB สามารถชักนำให้เมล็ดและต้นกล้ามะเขือเทศมีความทนทานต่อสภาวะเค็มและสภาวะอุณหภูมิสูงได้มีประสิทธิภาพพอควร หากคำนึงถึงในแง่ของต้นทุนแล้ว วิธีการแช่เมล็ดนั้นเป็นวิธีการที่ประหยัดที่สุด เนื่องจากสารละลาย GB ที่ใช้นั้นมีปริมาณต่ำและให้ผลดีแก่ต้นกล้าทั้งในแง่ของเปอร์เซ็นต์การงอกและน้ำหนักสดของต้นกล้า นอกจากนี้ยังสามารถใช้กับเมล็ดได้มากมาย โดยสารละลายเพียง 100 ml อาจใช้แช่เมล็ดได้ถึงประมาณ 1000 เมล็ด ส่วนวิธีการให้พร้อมกับสารละลายนั้นอาจมีต้นทุน

สูงกว่าเนื่องจากต้องใช้ GB ความเข้มข้นสูงพอควรและใช้กับต้นกล้าได้ในจำนวนไม่มากนัก อย่างไรก็ตาม การทดลองนี้ได้ทดสอบประสิทธิภาพของ GB โดยใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างกันเพียงไม่กี่ตำรับ จึงควรมีการทดลองเพิ่มเติมเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อไปอีก นอกจากนี้ยังควรมีการทดลองให้ GB แก่ต้นมะเขือเทศโดยวิธีการพ่นทางใบ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับทั้งสองวิธีการที่ใช้ในการทดลองนี้อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

Abdelmageed A.H.A., Gruda N., and El Balla, M.M.A.(2009) Performance of different tomato genotypes in the arid tropics of the Sudan during summer season I. Vegetative growth. Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics. Vol. 110, 2:137-145

Alberte, R. S., and J. P. Thorner. (1977) Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. Plant Physiol. 59:351-353

Ashraf M. and Foolad M.R. (2007) Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. Environ. Exp. Bot., 59: 206-216

Asian Development Bank (2009) The Economics of Climate Change in Southeast Asia: A Regional Review. Chapter 3: p24-25..

Banu M. N. A., Hoque M. A., Watanabe-Sugimoto M., Islam M. M., Uraji M., Matsuoka K., Nakamura Y., and Murata Y.(2010) Proline and glycinebetaine ameliorated NaCl stress via scavenging hydrogen peroxide and methylglyoxal but not superoxide and nitric oxide in Tobacco Cultured Cells.,*Biosci. Biotechnol. Biochem*,Vol.74,pp.2043-2049

Björkman, T. and Pearson K.J. (1998) High temperature arrest of inflorescence development in broccoli (Brassica oleracea var. italica L.) Journal of Experimental Botany 49:101-106.

Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.L. (2000) Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland.

Camejo D, Rodríguez P, Morales MA, Dell'Amico JM, Torrecillas A, Alarcón JJ. (2005) High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. J Plant Physiol. 162(3):281-9.

Chen TH, Murata N. (2011) Glycinebctaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. Plant, Cell & Environment, 34: 1–20.

Campos PS, Quartin V, Ramalho JC, Nunes MA. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of Coffea sp. plants. J Plant Physiol. 2003 Mar;160(3):283-92.

Craig, S. A. (2004). Betainc in human nutrition. Am J Clin Nutr 80: 539-549

Cruz R.V., Harasawa H., Lal M., Wu S., Anokhin Y., Punsalmaa B., Honda Y., Jafari M., Li C. and Huu

Ninh N., (2007) Asia. Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, M.L. Parry, O.F. Canziani, J.P. Palutikof, P.J. van der Linden and C.E. Hanson, Eds., Cambridge University Press, Cambridge, UK, 469-506.

Cuartero J., Fernandez-Munoz R. (1999): Tomato and salinity. Sci. Hort., 78: 83–125.

de Zwart FJ, Slow S, Payne RJ, et al. (2003) Glycine betainc and glycine betaine analogues in common foods. Food Chem 2003;83:197–204.

Gadallah M.A.A.(1999) Effects of proline and glycinebetaine on Vicia faba responses to salt-stress, Biol. Plant. 42. pp. 249–257.

Hansen J., Sato Mki., Ruedy R., Lo K., Lea D.W., Medina-Elizade M. (2006). Global temperature change. Proc. Natl. Acad. Sci. **103** (39): 14288–14293

Holmström KO, Somersalo S, Mandal A, Palva TE, Welin B. (2000) Improved tolerance to salinity and low temperature in transgenic tobacco producing glycine betaine. J Exp Bot. 51(343):177-85.

Iba K. (2002) Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance. Annu Rev Plant Biol.53:225-45.

Jenni, S. (2005) Rib discoloration: A physiological disorder induced by heat stress in crisphead lettuce. HortScience. 40, 2031-2035.

Larkindale J, Knight MR (2002) Protection against heat stress-induced oxidative damage in Arabidopsis involves calcium, abscisic acid, ethylene, and salicylic acid. Plant Physiol **128:** 682–695

Lefsrud M.G. and Kopsell D.A. (2006) Biomass production and pigment accumulation in kale grown under different radiation cycles in a controlled environment. HortScience 4:1412-1415.

Li S, Li F, Wang J, Zhang W, Meng Q, Chen TH, Murata N, Yang X. Glycinebetaine enhances the tolerance of tomato plants to high temperature during germination of seeds and growth of seedlings. Plant Cell Environ. 2011 Nov;34(11):1931-43

Liu XZ, Huang BR.(2000) Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. Crop Science40,503–510

Lutts S., Kinet J.M., Bouharmont J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice culti- vars differing in salinity resistance. Ann. Bot. 78:389-398

Makela P., Jokinen K., Kontturi, M., Peltonen-Sainio, P., Pehu E., Somersalo S. (1998) Foliar application of glycinebetaine - a novel product from sugar beet - as an approach to increase tomato yield. Industrial Crops and Products 7, 2,3: 139-148.

Makela, P., Kontturi, M., Pehu E., Somersalo, S. Photosynthetic response of drought- and salt-stressed

tomato and turnip rape plants to foliar-applied glycinebetaine. Physiologia plantarum 105(1999), 45-50

Marcum K.B. (1998) Cell membrane thermostability and whole-plant heat tolerance of Kentucky bluegrass, Crop Sci. 38 pp. 1214–1218

Nonnecke I.L. (1989) Vegetable production. Van Nostrand Reinhold, 115 Fifth Ave., NY, pp. 339-346

Peet M.M., Willits D.H., Gardner R.G. (1997) Response of ovule development and post-pollen production processes in male-sterile tomatoes to chronic, sub-acute high temperatures stress. J. Exp. Bot. 48:101-112

Peñuelas, J. and Fillela, I. 1998. Visible and near-infrared reflectance techniques for diagnosing plant physiological status. Trends in Plant Science, 3: 151–156.

Pressman E, Peet MM, Pharr DM. (2002) The effect of heat stress on tomato pollen characteristics is associated with changes in carbohydrate concentration in the developing anthers. *Annals of Botany* 90: 631–636

Rajashekar, C. B., Zhou, H., Marcum, K. B., Prakash, O. (1999) Glycine betain accumulation and induction of cold tolerance in strawberry (Fragaria X ananassa Duch.) plants. Plant Science 148, 175-183.

Richardson AD, Duigan SP and Berlyn GP (2002) "An Evaluation of Noninvasive Methods to Estimate Foliar Chlorophyll Content," New Phytologist, Vol. 153, No. 1, 2002, pp. 185-194.

Rubatzky V.E., Yamaguchi M. (1997) World Vegetbales: Principles, Production, and Nutritive Values. Chapman & Hall. New York.

Sato S, Kamiyama M, Iwata T, Makita N, Furukawa H, Ikeda H. Moderate increase of mean daily temperature adversely affects fruit set of Lycopersicon esculentum by disrupting specific physiological processes in male reproductive development. Ann Bot. 2006 May;97(5):731-8.

Sullivan C.Y. (1972) Mechanisms of Heat and Drought Resistance in Grain Sorghum. In: Sorghum in the Seventies, Rao, N.G.P. and L.R. House (Eds.). Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi, India, pp: 247-264.

Tewari A. K., Tripathy B. C. (1998).Temperature-stress-induced impairment of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber (*cucumis sativus* L) and wheat (*Triticum aestivum* l). *Plant Physiol. 117*: 851 858.

Waditee R, Bhuiyan MN, Rai V, Aoki K, Tanaka Y, Hibino T, Suzuki S, Takano J, Jagendorf AT, Takabe T. (2005) Genes for direct methylation of glycine provide high levels of glycinebetaine and abiotic-stress tolerance in Synechococcus and Arabidopsis. Proc Natl Acad Sci U S A. 1;102(5):1318-23.

Wahid A. Shabbir A. (2005) Induction of heat stress tolerance in barley seedlings by pre-sowing seed treatment with glycinebetaine. Plant Growth Regulation, v.46, p.133-141

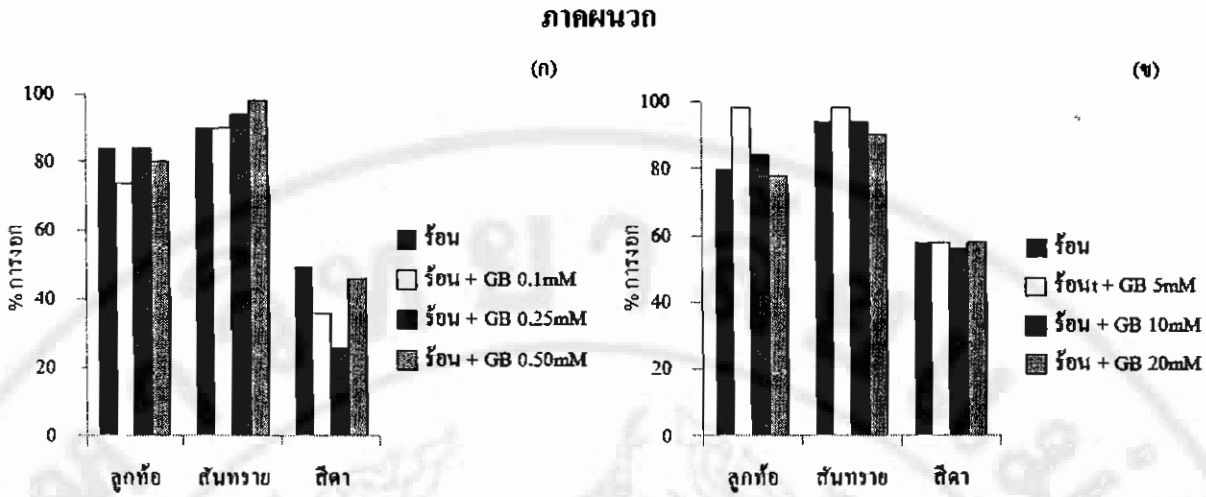
Xing, W and Rajashekar, C B. 1999. Alleviation of water stress in beans by exogenous glycinebetaine. Plant Sci. 148: 185–195.

Yamane Y, Kashino Y, Koike H, Satoh K (1998) Effects of high temperatures on the photosynthetic systems in spinach: oxygen-evolving activities, fluorescence characteristics and the denaturation process. Photosynth Res 57 51–59

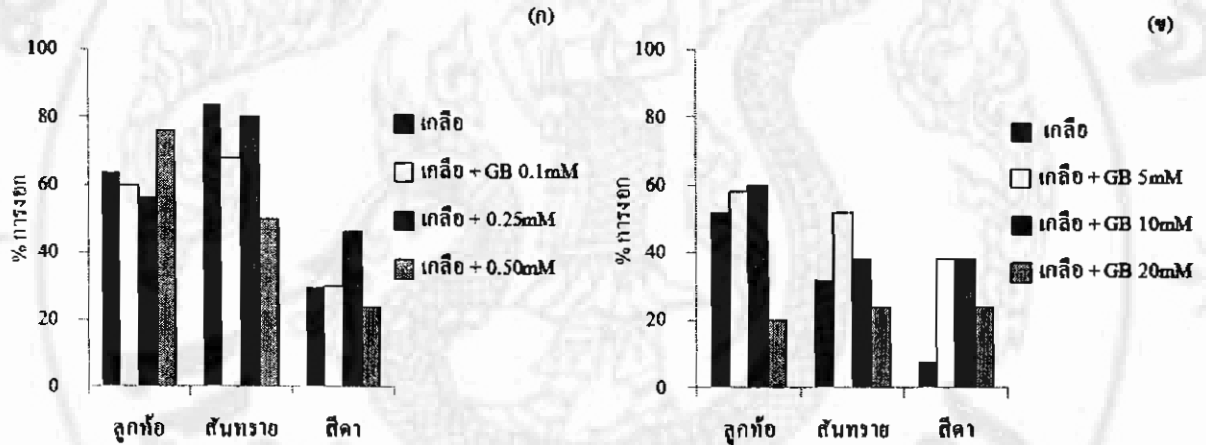
Yang X, C Lu (2006) Effects of exogenous glycinebetaine on growth, CO2 assimila- tion, and photosystem. II. Photochemistry of maize plants. Physiologia Plantarum, Volume 127, issue 4 (August 2006), p. 593-602.

Yang X, Wen X, Gong H, Lu Q, Yang Z, Tang Y, Liang Z, Lu C. (2007) Genetic engineering of the biosynthesis of glycinebetaine enhances thermotolerance ofphotosystem II in tobacco plants. Planta. Feb;225(3):719-33.

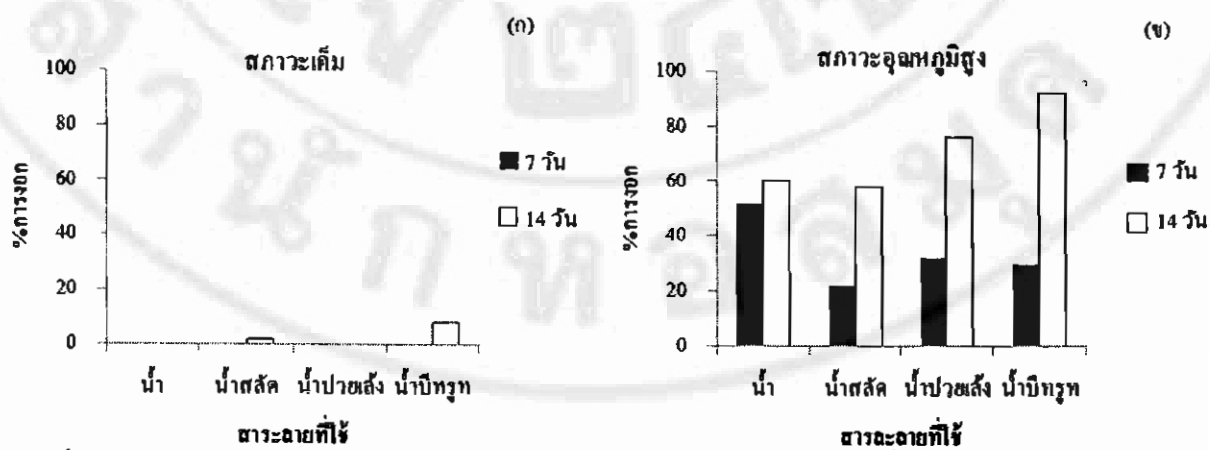
Zarco-Tejada, P.J., J.R. Miller, G.H. Mohammed, T.L. Noland, P.H. Sampson, Vegetation stress detection through Chlorophyll a+b estimation and Fluorescence effects on Hyperspectral Imagery. Journal of Environmental Quality, 31, 1433-1441.



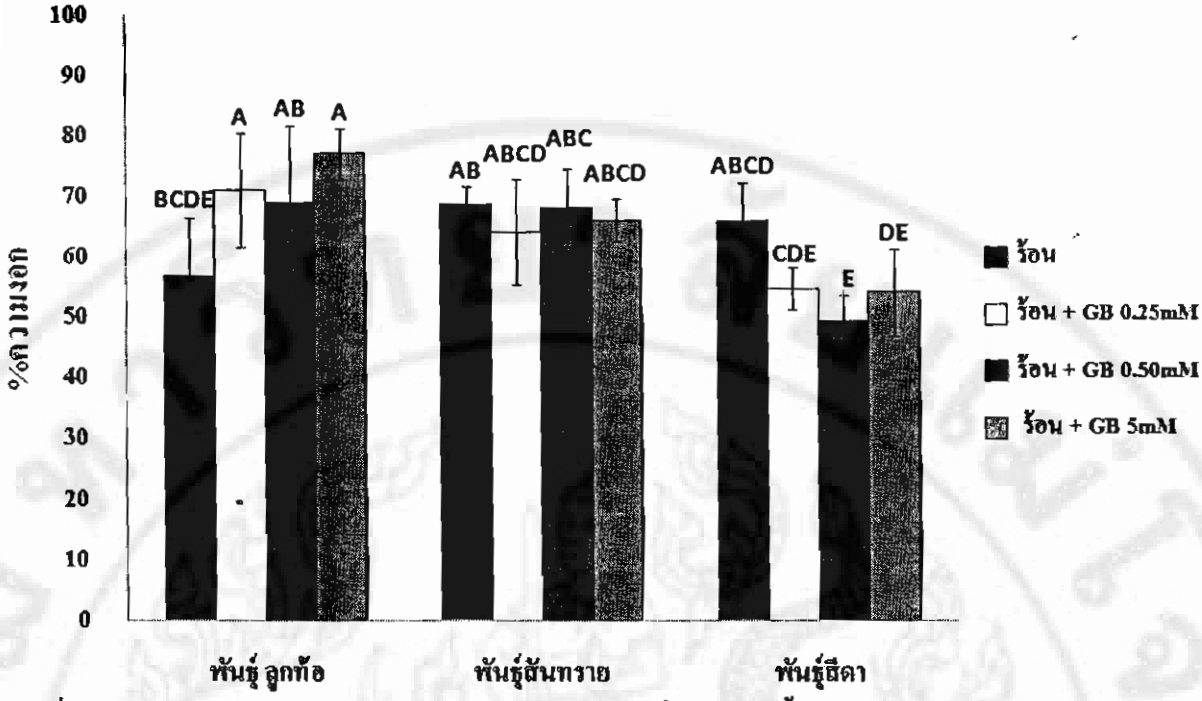
ภาพที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของมะเขือเทศพันธุ์ต่างๆที่ถูกแช่ในน้ำหรือสารละลาย GB ความเข้มข้น (ก) 0.1 – 0.5 mM และ (ข) 5 – 20 mM หนึ่งคืนก่อนนำไปเพาะในสภาวะอุณหภูมิสูง 35±2°C



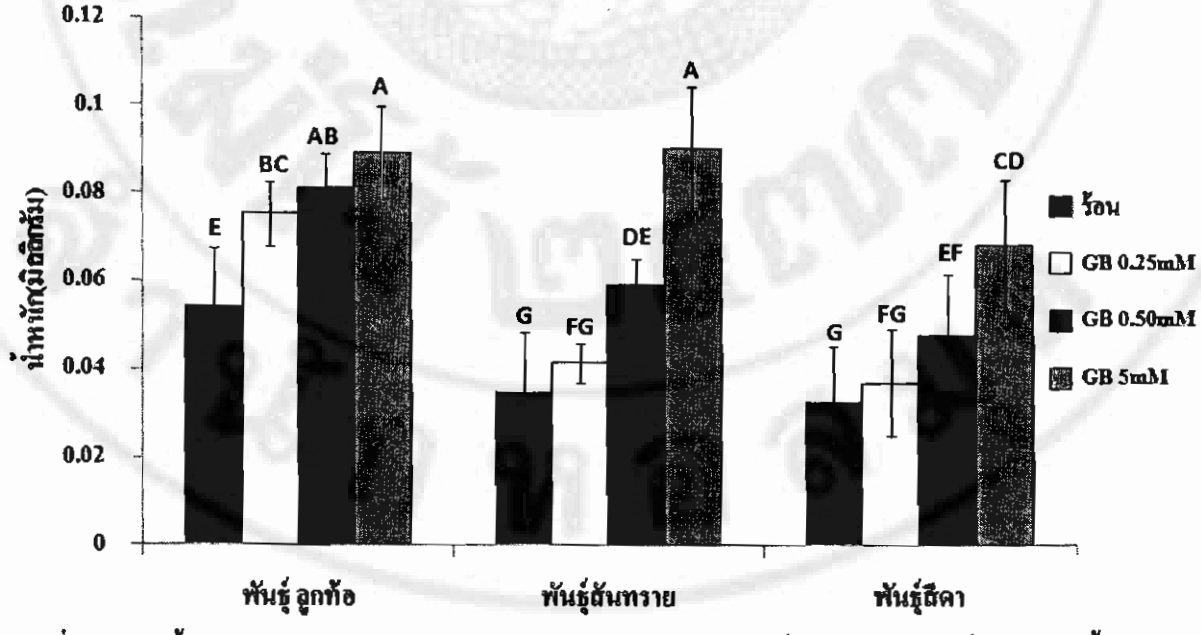
ภาพที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของมะเขือเทศพันธุ์ต่างๆที่ถูกแช่ในน้ำหรือสารละลาย GB ความเข้มข้น (ก) 0.1 – 0.5 mM และ (ข) 5 – 20 mM หนึ่งคืนก่อนเพาะในสภาวะเค็ม (เกลือแกง 10,000 ppm)



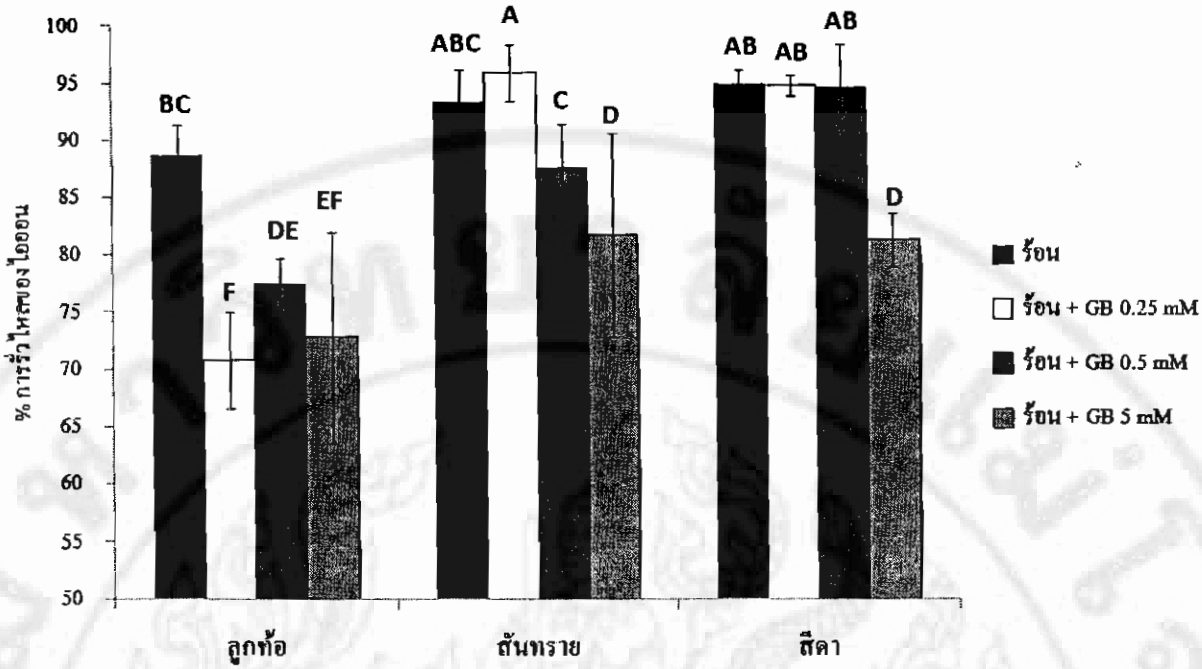
ภาพที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อที่ถูกแช่ในน้ำหรือน้ำคั้นผักชนิดต่างๆเป็นเวลาสองคืนก่อนเพาะใน (ก) สภาวะเค็ม (เกลือแกง 10,000 ppm) และ (ข) สภาวะอุณหภูมิสูง 35±2°C



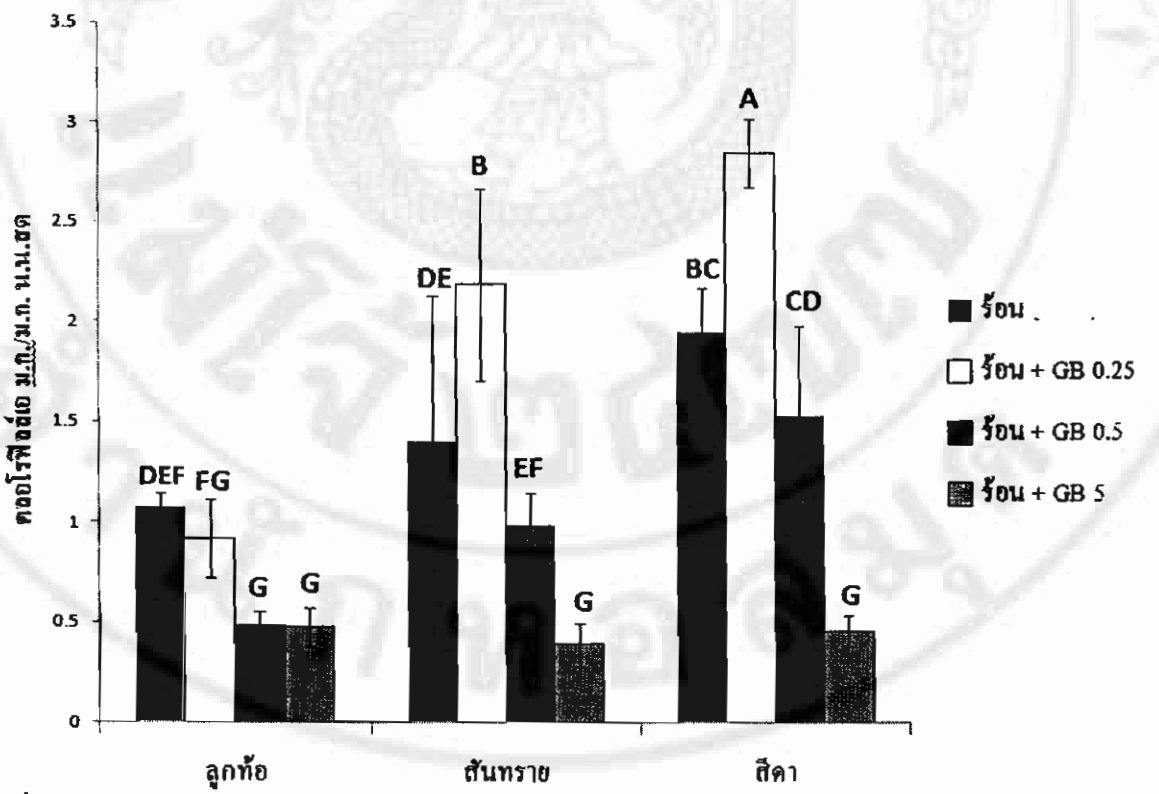
ภาพที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของมะเขือเทศพันธุ์ต่างๆที่ถูกแช่ในน้ำหรือสารละลาย GB ความเข้มข้น 0.25 - 5 mM หนึ่งคืนก่อนนำไปเพาะในสภาวะอุณหภูมิสูง 35±2°C (n= 3) แถบคลาดเคลื่อนแสดงส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติวิเคราะห์โดยวิธีการ DMRT



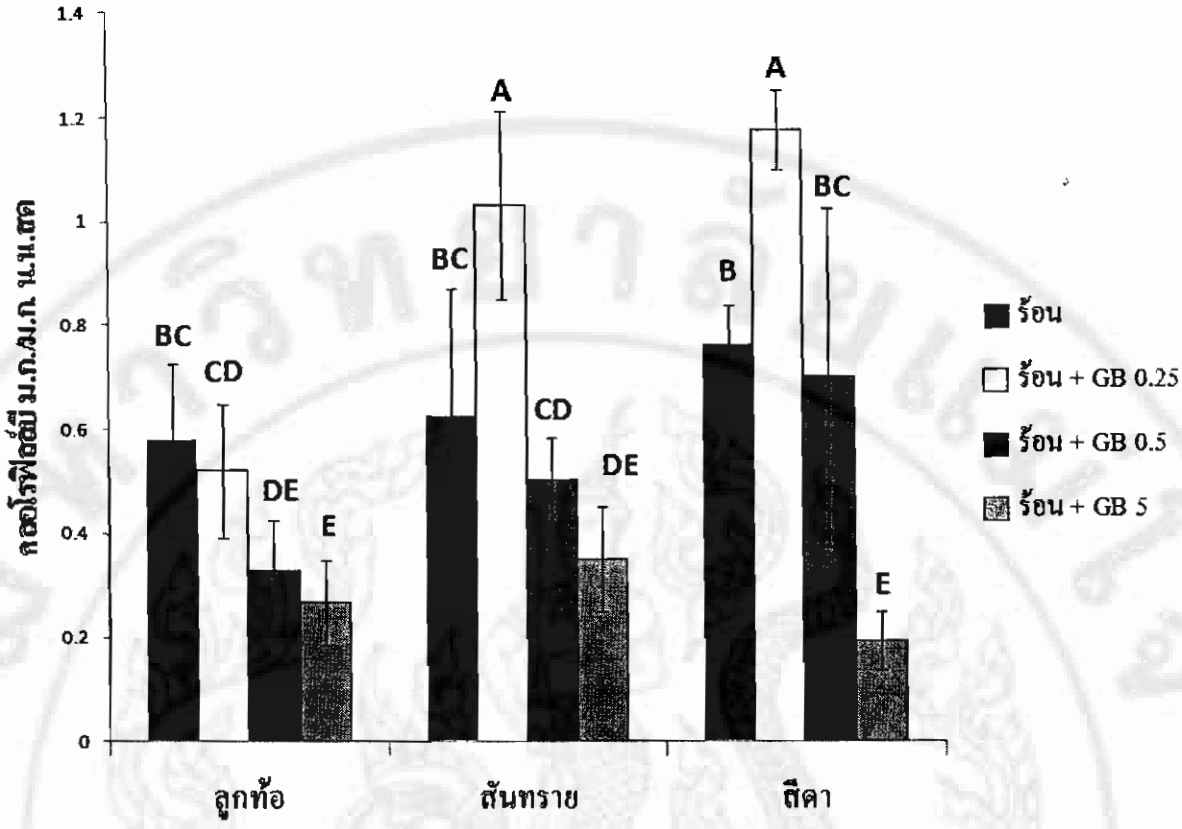
ภาพที่ 5 แสดงน้ำหนักสดของต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ต่างๆอายุ 21 วันที่เจริญจากเมล็ดที่ถูกแช่ในน้ำหรือสารละลาย GB ความเข้มข้น0.25 - 5 mM หนึ่งคืนก่อนเพาะในสภาวะอุณหภูมิสูง 35±2°C (n= 8)



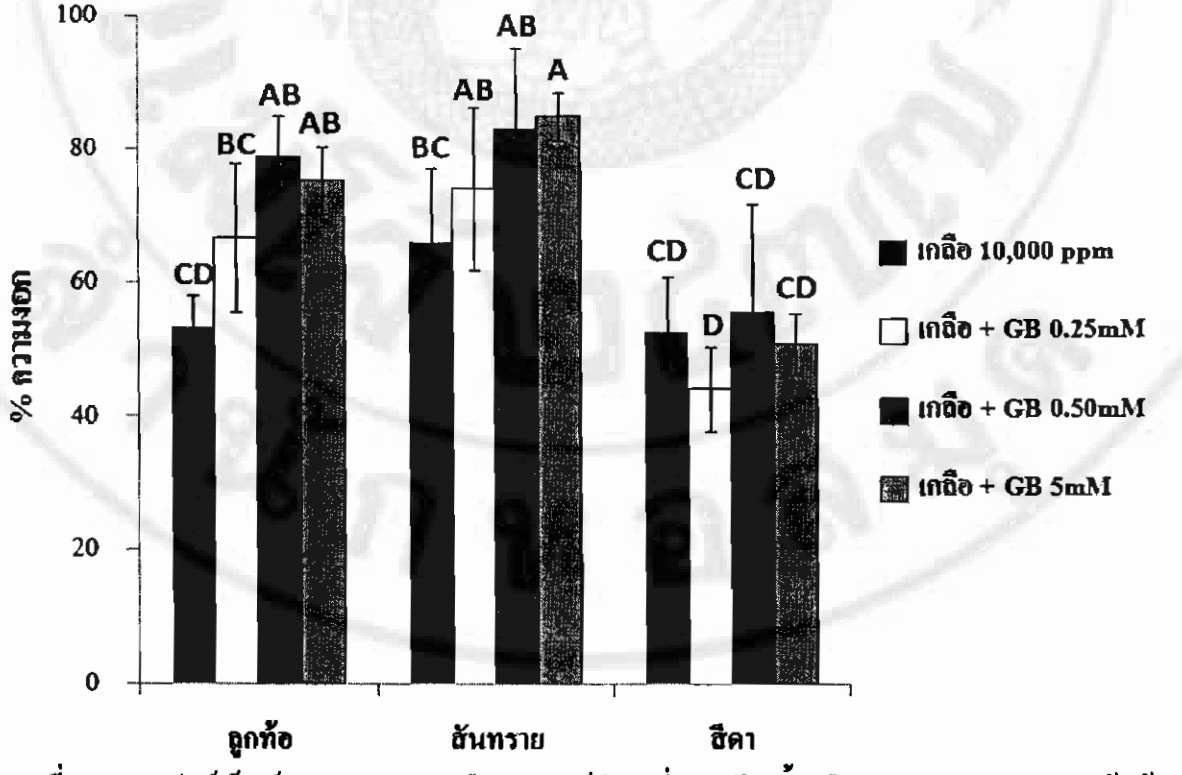
ภาพที่ 6 แสดงเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนจากใบต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ต่างๆอายุ 21 วันที่เจริญจากเมล็ดที่ถูกแช่ในน้ำหรือสารละลาย GB ความเข้มข้น0.25 - 5 mM หนึ่งคืนก่อนนำไปเพาะในสภาวะอุณหภูมิสูง 35±2°C (n= 5)



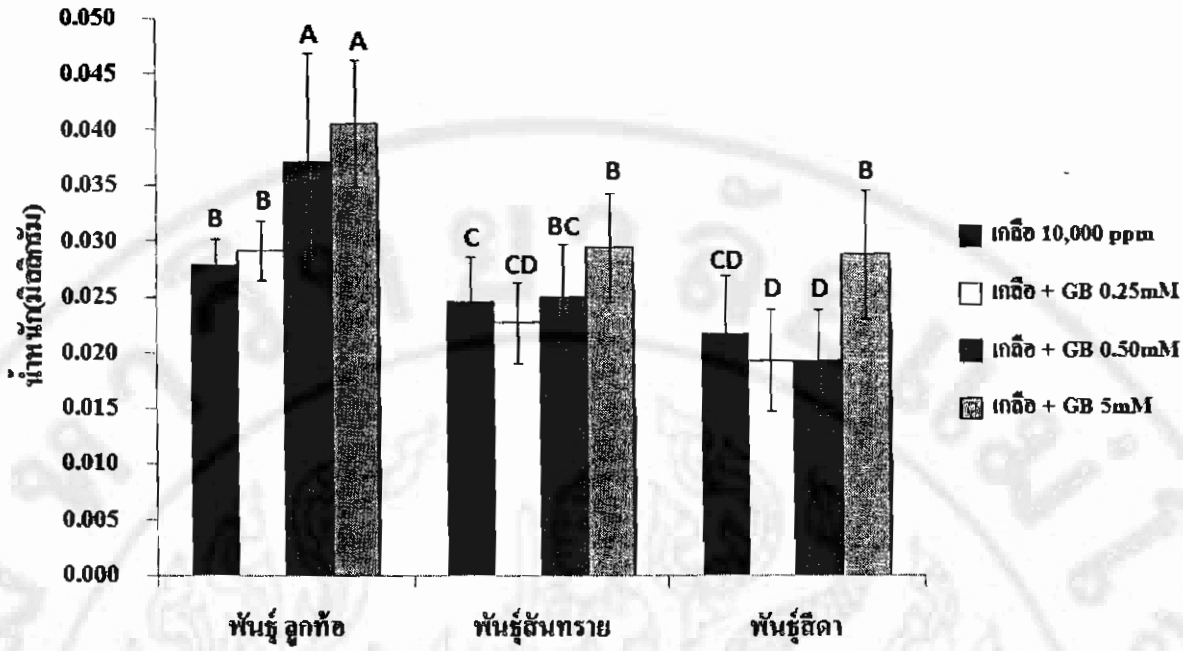
ภาพที่ 7 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์เอจากใบต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ต่างๆอายุ 21 วันที่เจริญจากเมล็ดที่ถูกแช่ในน้ำหรือสารละลาย GB ความเข้มข้น0.25 - 5 mM หนึ่งคืนก่อนนำไปเพาะในสภาวะอุณหภูมิสูง 35±2°C (n= 5)



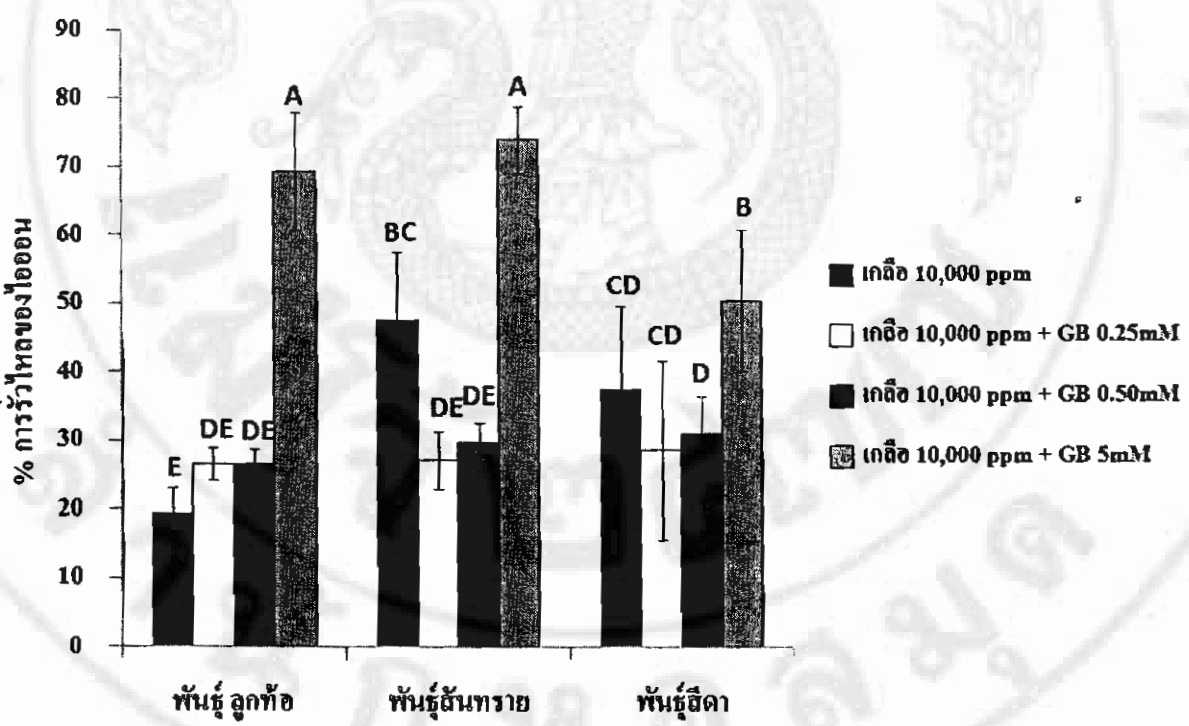
ภาพที่ 8 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์บีจากใบต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ต่างๆอายุ 21 วันที่เจริญจากเมล็ดที่แช่น้ำหรือสารละลายGBความเข้มข้น0.25 - 5 mMหนึ่งคืนก่อนเพาะในสภาวะอุณหภูมิสูง 35±2°C (n= 5)



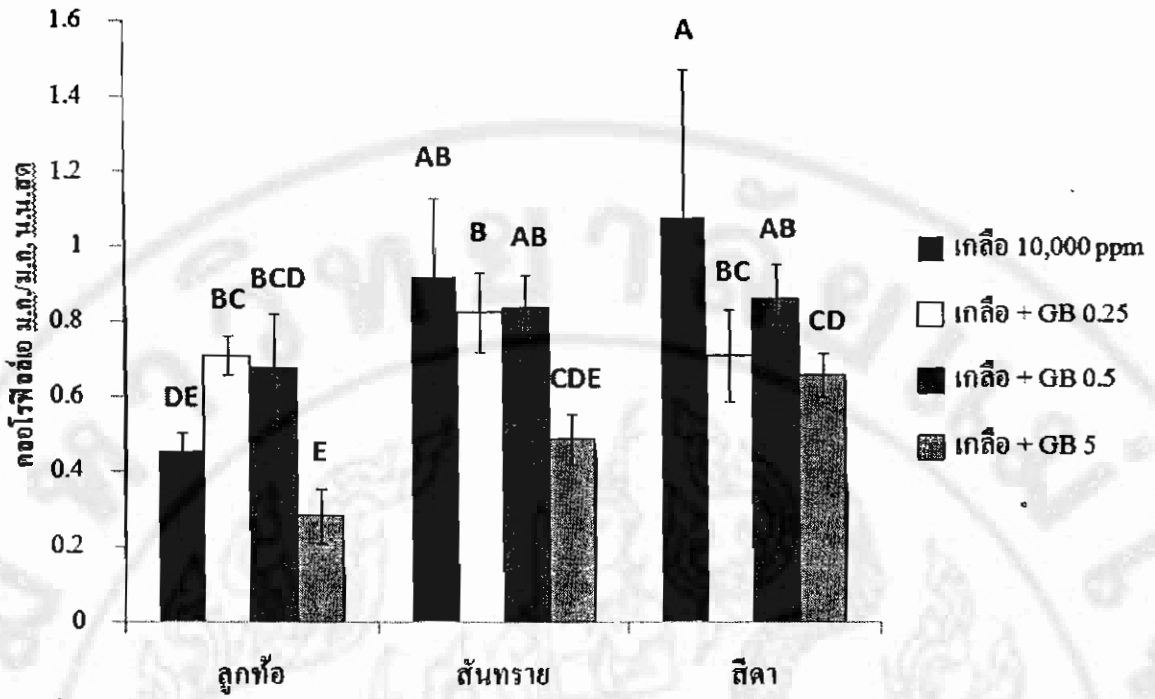
ภาพที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของมะเขือเทศพันธุ์ต่างๆที่ถูกแช่ในน้ำหรือสารละลาย GB ความเข้มข้น 0.25 - 5 mM หนึ่งคืนก่อนนำไปเพาะในสภาวะเค็ม (เกลือแกง 10,000 ppm) (n= 3)



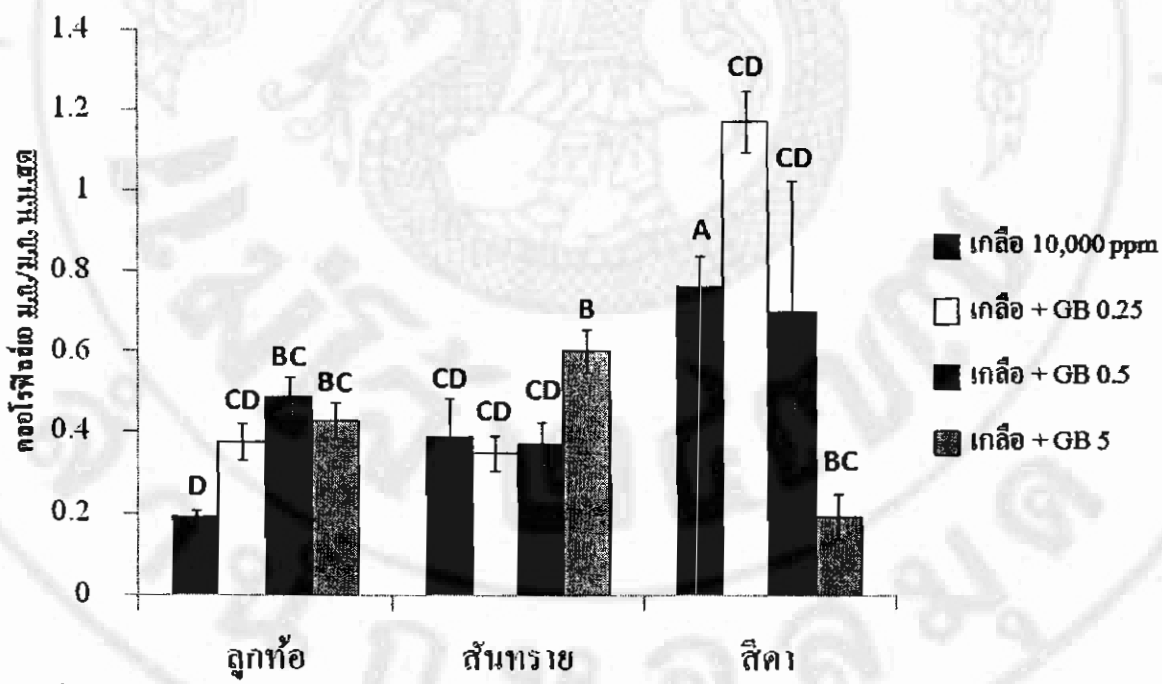
ภาพที่ 10 แสดงน้ำหนักสดของต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ต่างๆอายุ 21 วันที่เจริญจากเมล็ดที่ถูกแช่ในน้ำหรือสารละลาย GB ความเข้มข้น0.25 - 5 mM หนึ่งคืนก่อนนำไปเพาะในสภาวะเค็ม (n= 8)



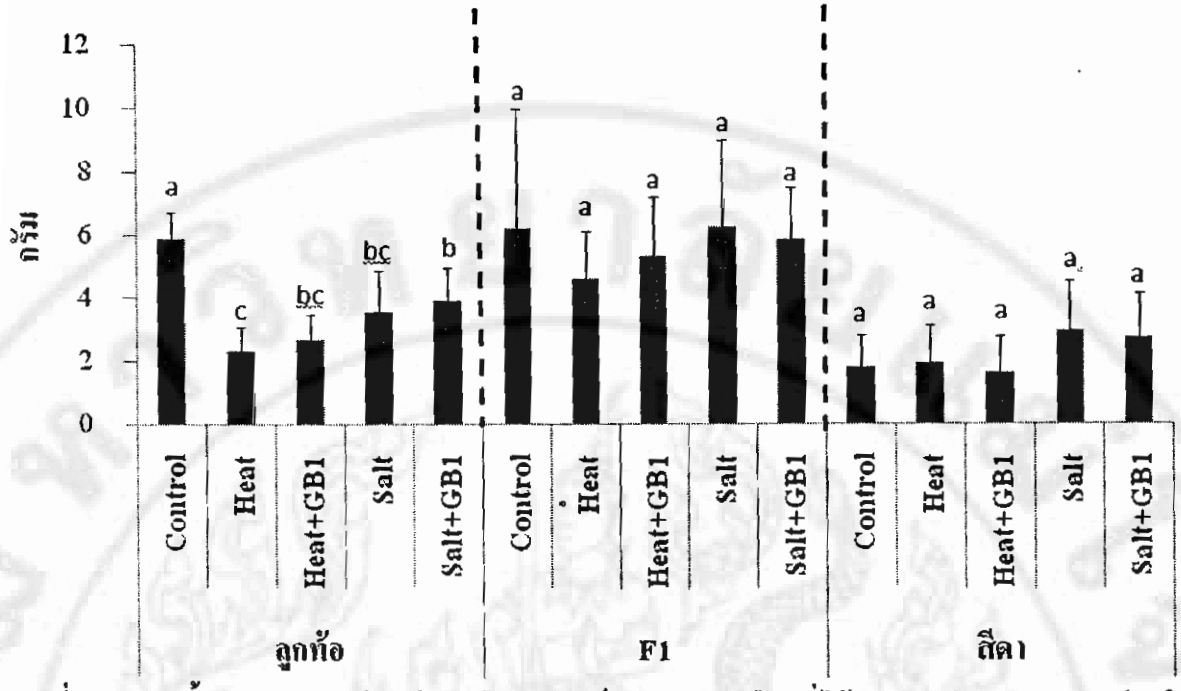
ภาพที่ 11 แสดงเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนจากใบต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ต่างๆอายุ 21 วันที่เจริญจากเมล็ดที่ถูกแช่ในน้ำหรือสารละลาย GB ความเข้มข้น0.25 - 5 mM หนึ่งคืนก่อนนำไปเพาะในสภาวะเค็ม35±2°C (n= 5)



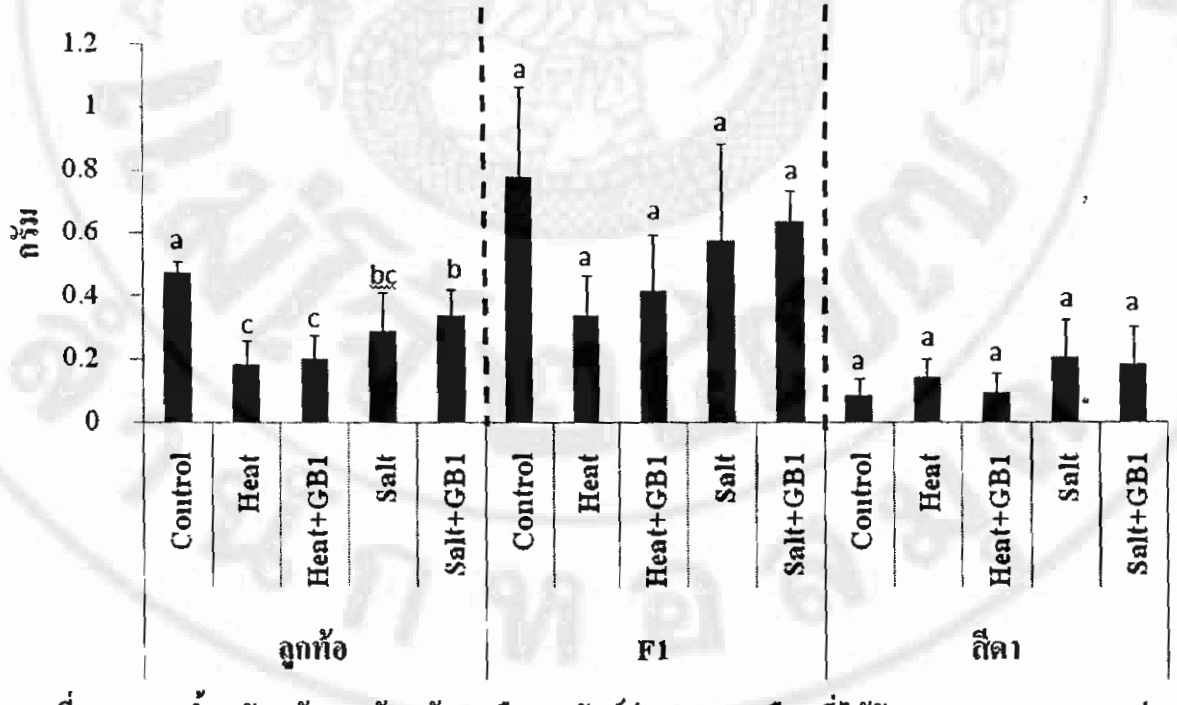
ภาพที่ 12 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์เอจากใบต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ต่างๆอายุ 21 วันที่เจริญจากเมล็ดที่แช่น้ำหรือสารละลาย GB ความเข้มข้น0.25 - 5 mM หนึ่งคืนก่อนนำไปเพาะในสภาวะเค็ม (n= 5)



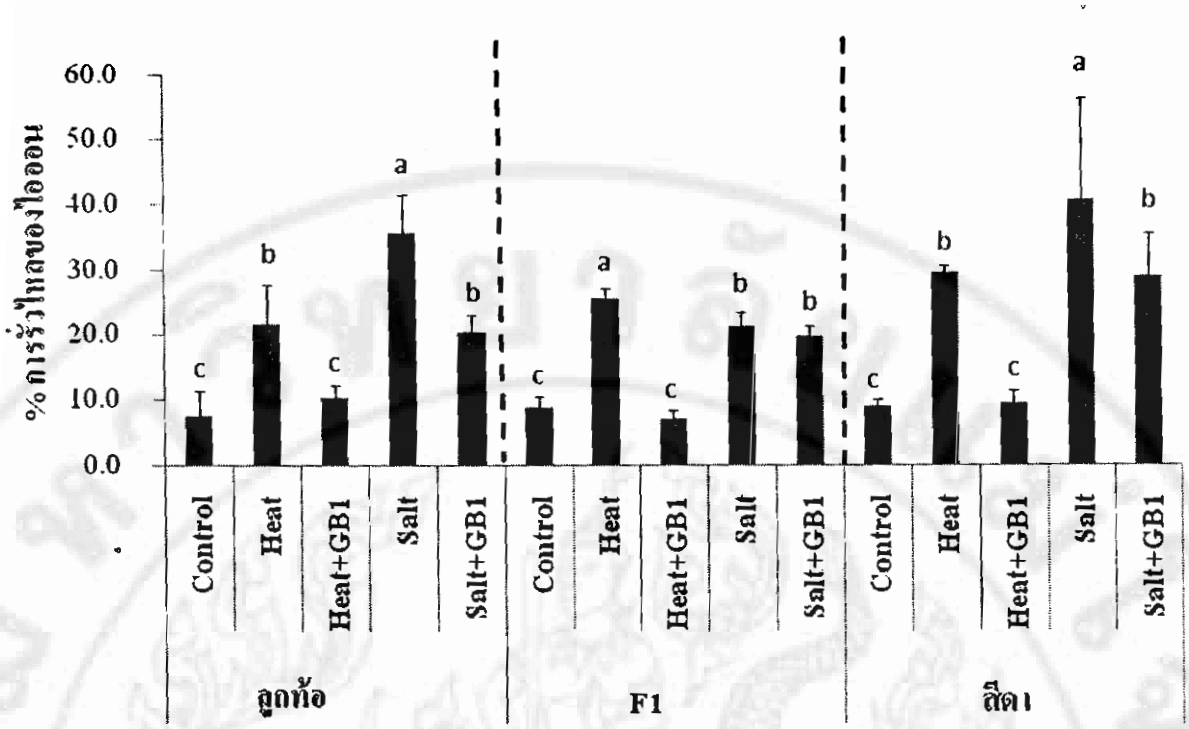
ภาพที่ 13 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์บีจากใบต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ต่างๆอายุ 21 วันที่เจริญจากเมล็ดที่ถูกแช่ในน้ำหรือสารละลาย GB ความเข้มข้น0.25 - 5 mM หนึ่งคืนก่อนนำไปเพาะในสภาวะเค็ม (n= 5)



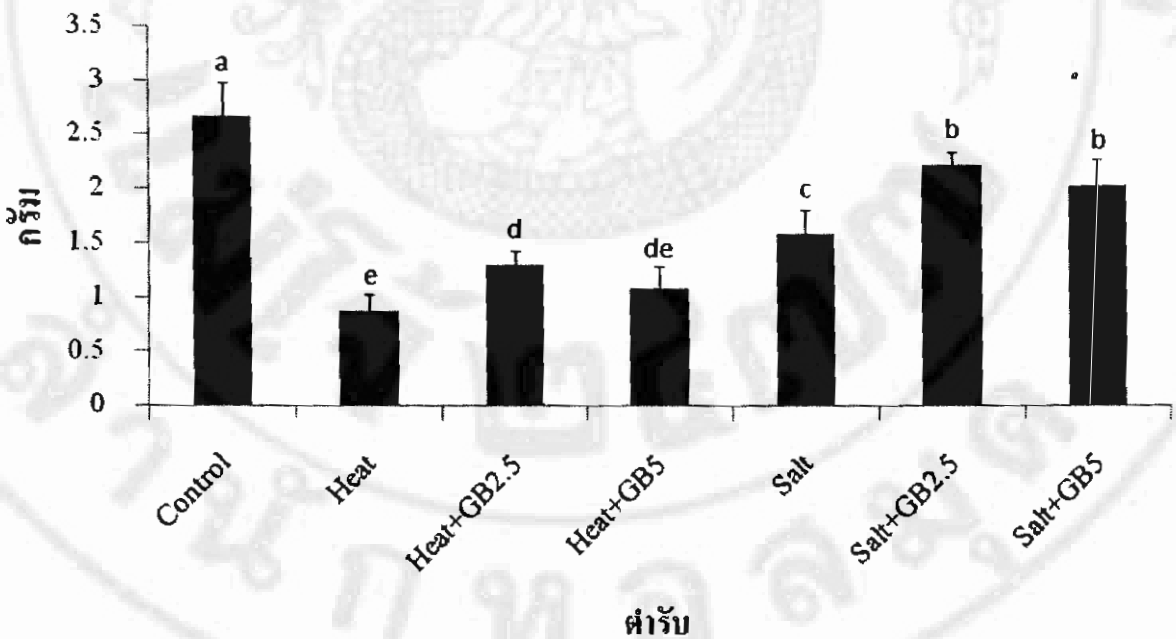
ภาพที่ 14 แสดงน้ำหนักสดของต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ต่างๆอายุ 1 เดือนที่ได้รับสารละลาย GB และปลูกในสภาวะควบคุม (Control, 25±2°C) สภาวะอุณหภูมิสูง (Heat, 35±2°C) และสภาวะเค็ม (Salt, 10,000 ppm) (n= 4)



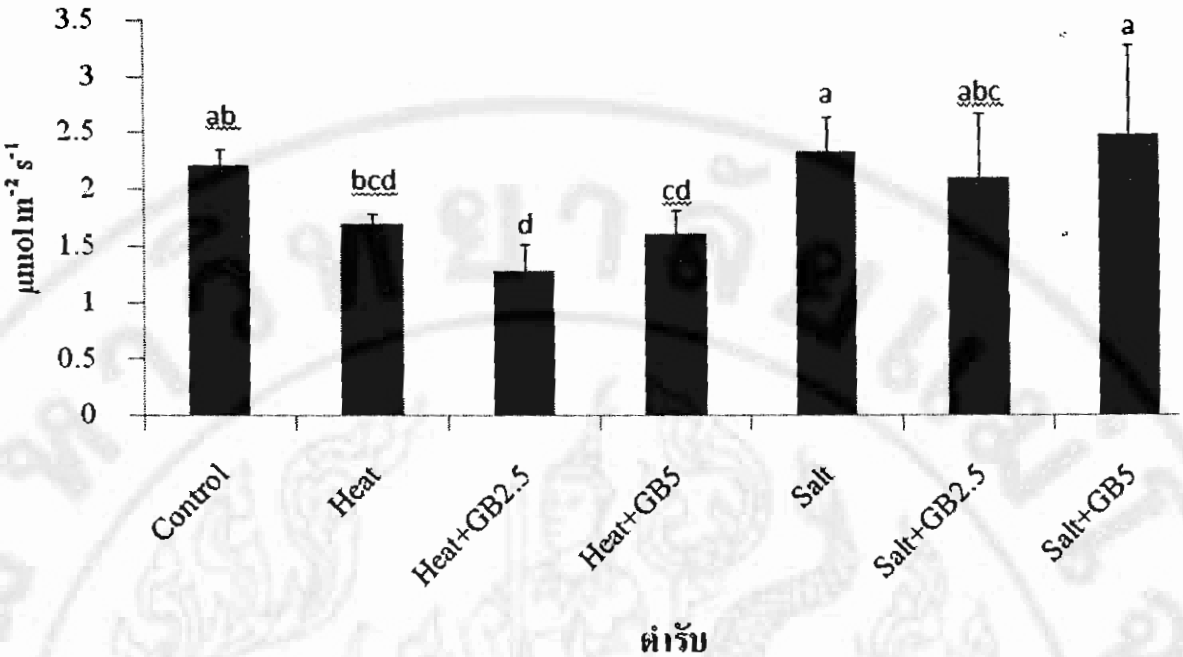
ภาพที่ 15 แสดงน้ำหนักแห้งของต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ต่างๆอายุ 1 เดือนที่ได้รับสารละลาย GB และปลูกในสภาวะควบคุม (Control, 25±2°C) สภาวะอุณหภูมิสูง (Heat, 35±2°C) และสภาวะเค็ม (Salt, 10,000 ppm) (n= 4)



ภาพที่ 16 แสดงเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออนจากใบของต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ต่างๆอายุ 1 เดือนที่ได้รับสารละลาย GB และปลูกในสภาวะควบคุม (Control, 25±2°C) สภาวะอุณหภูมิสูง (Heat, 35±2°C) และสภาวะเค็ม (Salt, 10,000 ppm) (n= 4)

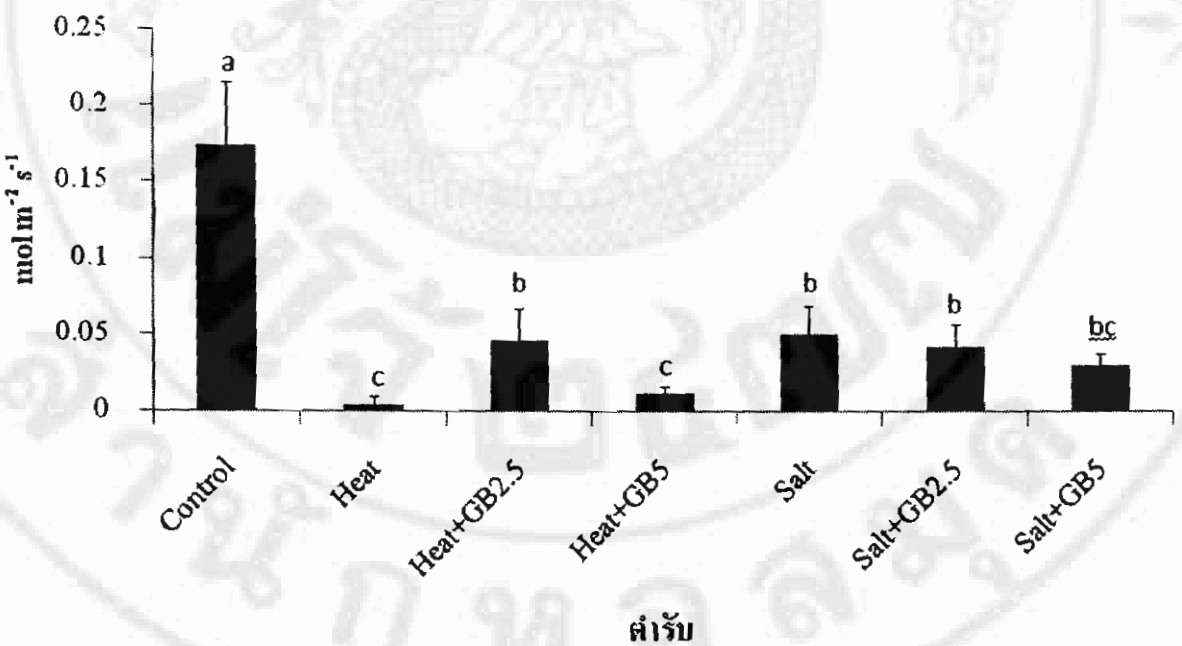


ภาพที่ 17 แสดงน้ำหนักสดของต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ลูกท้ออายุ 1 เดือนที่ได้รับสารละลาย GB และปลูกในสภาวะควบคุม (Control, 25±2°C) สภาวะอุณหภูมิสูง (Heat, 35±2°C) และสภาวะเค็ม (Salt, 10,000 ppm) (n= 5)



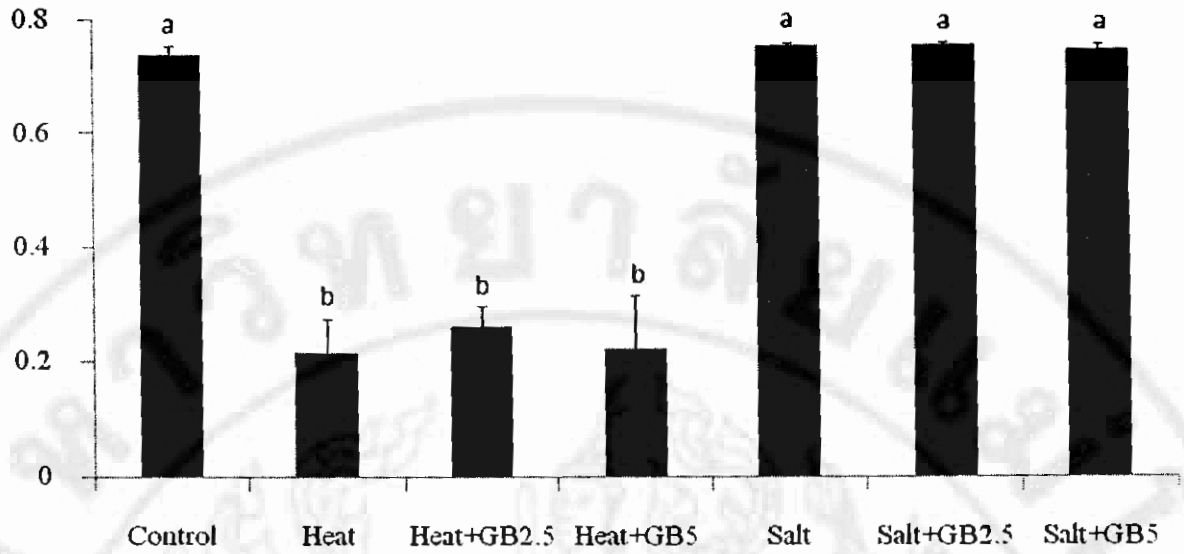
ตำรับ

ภาพที่ 18 แสดงอัตราการสังเคราะห์แสงของต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ลูกท้ออายุ 1 เดือนที่ได้รับสารละลาย GB และปลูกในสภาวะควบคุม (Control, 25±2°C) สภาวะอุณหภูมิสูง (Heat, 35±2°C) และสภาวะเค็ม (Salt, 10,000 ppm) (n= 5)



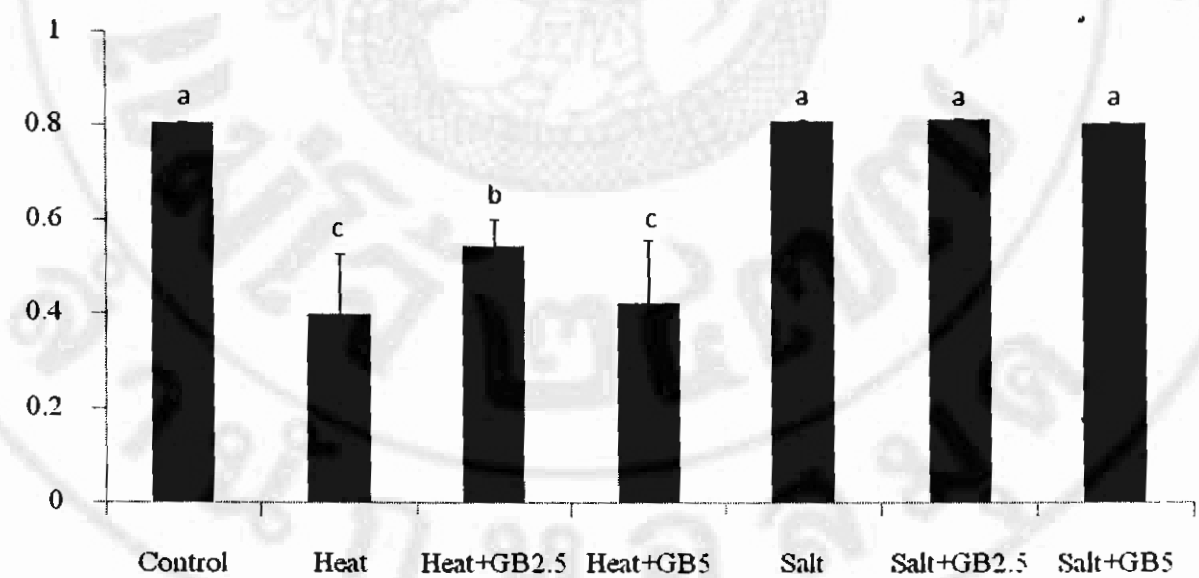
ตำรับ

ภาพที่ 19 แสดงค่าการนำของปากใบของต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ลูกท้ออายุ 1 เดือนที่ได้รับสารละลาย GB และปลูกในสภาวะควบคุม (Control, 25±2°C) สภาวะอุณหภูมิสูง (Heat, 35±2°C) และสภาวะเค็ม (Salt, 10,000 ppm) (n= 5)



ตำรับ

ภาพที่ 20 แสดงค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง ในสภาวะมีแสง (ØPSII) (PPFD = 100 µmol m^{-2} s^{-1}) ของใบจากต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ลูกท้ออายุ 1 เดือนที่ได้รับสารละลาย GB และปลูกในสภาวะควบคุม (Control, 25±2°C) สภาวะอุณหภูมิสูง (Heat, 35±2°C) และสภาวะเค็ม (Salt, 10,000 ppm) (n= 5)



ตำรับ

ภาพที่ 21 แสดงค่าประสิทธิภาพสูงสุดของระบบแสงที่สอง (Fv/Fm) ของใบจากต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ลูกท้ออายุ 1 เดือนที่ได้รับสารละลาย GB และปลูกในสภาวะควบคุม (Control, 25±2°C) สภาวะอุณหภูมิสูง (Heat, 35±2°C) และสภาวะเค็ม (Salt, 10,000 ppm) (n= 5)