การชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อนด้วยการใช้ วิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์

วนาลี พิงคะสัน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อนด้วยการใช้
วิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์

วนาลี พิงคะสัน

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน

พิจารณาเห็นชอบโดย **อาจารย์ที่ปรึกษา**

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ....
(อาจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี)
วันที่ 7 เดือน ก.ค. พ.ศ. 2559

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ....
(อาจารย์ ดร.ปรีดา นาเทเวศน์)
วันที่ 7 เดือน ก.ค. พ.ศ. 2559

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา คงจรูญ)
วันที่ 7 เดือน กค พ.ศ. 2559

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตร ....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรนุช เจริญกิจ)
วันที่ 11 เดือน ก.ค. พ.ศ. 2559

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว ....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จตุรภัทร วาฤทธิ์)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่ 11 เดือน ก.ค พ.ศ. 2559

MAEJO UNIVERSITY

ชื่อเรื่อง	การชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อนด้วยการใช้วิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์
ชื่อผู้เขียน	นางสาววนาลี พิงคะสัน
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	อาจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี

บทคัดย่อ

สภาวะอุณหภูมิสูงส่งผลเสียต่อการผลิตมะเขือเทศทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ งานวิจัยนี้จึงทดลองใช้สารละลายวิตามินซี และสารละลายเกลือแคลเซียม เพื่อชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูง จากการทดลองพบว่าสารละลายวิตามินซีที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 1 และ 5 มิลลิโมลาร์ สามารถชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนทานต่อสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยการพ่นสารละลายทั้งสองชนิดให้กับต้นกล้ามะเขือเทศทางใบมีผลทำให้ค่า ϕ_{PSII} และค่า F_v/F_m อัตราการสังเคราะห์แสง อัตราการคายระเหยของน้ำ อัตราการนำไหลของปากใบ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งเพิ่มสูงขึ้น และทำให้ปริมาณมาลอนดิอัลดีไฮด์ เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของไอออน ปริมาณอนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และการตายของเซลล์ในต้นกล้ามะเขือเทศลดลงในสภาพอุณหภูมิสูง

คำสำคัญ : มะเขือเทศ, ความทนร้อน, วิตามินซี, แคลเซียมคลอไรด์, heat shock protein, อัตราการสังเคราะห์แสง, อนุมูลอิสระ, reactive oxygen species or ROS, สารต้านอนุมูลอิสระ, อนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์, ปริมาณมาลอนดิอัลดีไฮด์, ประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สอง, ประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง, อัตราการคายระเหยของน้ำ

Title	Induction of Heat Tolerance in Tomato Seedling by Using Vitamin C and Calcium Chloride
Author	Miss Wanalee Phingkasan
Degree of	Master of Science in Horticulture
Advisory Committee Chairperson	Dr. Siriwat Sakhonwaseee

ABSTRACT

High temperature adversely affects tomato production in both quality and quantity. In this research, the effect of using vitamin C and calcium salt to induce heat tolerance in tomato seedlings was investigated. Results showed that vitamin c solution at 5 mM and calcium chloride solution at 1 mM, were able to induce heat tolerance in tomato seedling against 39 °C condition. Foliar application of vitamin c and calcium chloride solution was found to increase maximum quantum yields of PSII (F_v/F_m), and PSII (ϕ_{PSII}), net photosynthesis rate, transpiration rate, stomatal conductance, increase in dry weight and in addition, the amount of malondialdyhyde (MDA), percent ion or electrolyte leakage, the MDA contents, the amount of antioxidant, the amount of free superoxide and hydrogen peroxide and cell death in tomato leaves, were reduced under heat stress condition.

Key word: tomato, heat tolerance, vitamin c, calcium chloride, HSP, photosynthesis, free radical, reactive oxygen species or ROS, antioxidant, superoxide, hydrogen peroxide, malondialdyhyde, F_v/F_m, capacity of PSll, transpiration rate

MAEJO UNIVERSITY

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้ด้วยบุคคลหลายๆ ท่าน ซึ่งท่านแรกที่ข้าพเจ้าใคร่ขอกราบขอบพระคุณคือ ท่านอาจารย์ ดร.สิริวัฒน์ สาครวาสี ที่รับเป็นที่ปรึกษาและเสียสละเวลาในการให้คำปรึกษาเกี่ยวกับหัวข้อและการทำวิทยานิพนธ์ ตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่ทุกขั้นตอน ตลอดจนคำแนะนำทางวิชาการที่ดีเสมอมา เพื่อให้การทำวิทยานิพนธ์สมบูรณ์ที่สุด และอีกสองท่านที่ขอกราบขอบพระคุณคือ ท่านอาจารย์ ดร.ปรีดา นาเทเวศน์ และท่านผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา คงจรูญ ที่รับเป็นกรรมการที่ปรึกษา รวมทั้งได้ให้คำแนะนำเกี่ยวกับแนวทางการวางแผนการทดลองและได้ชี้แนะแนวความคิดในการทำวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา ที่อยู่เบื้องหลังความสำเร็จครั้งนี้ รวมไปถึงสนับสนุนทุนการศึกษาในการเรียนและให้กำลังใจเสมอมาจนการเรียนปริญญาโทผ่านพ้นไปด้วยดี ขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่าน ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ทุกคนในห้องปฏิบัติการสาขาพืชผักที่คอยให้กำลังใจและแนะนำแนวคิดในการเรียน และมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ ที่ให้ความรู้ทั้งในระดับปริญญาตรีและปริญญาโทจนกระทั่งมีวันนี้ได้

วนาลี พิงคะสัน
กรกฎาคม 2559

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRAC	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
สารบัญตาราง	(8)
สารบัญภาพ	(9)
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์การวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
ขอบเขตของการทำวิจัย	4
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	5
ผลกระทบของสภาวะอุณหภูมิสูงต่อกระบวนการต่างๆ ของพืช	5
อนุมูลอิสระ และ Reactive Oxygen Spices	8
สารต้านอนุมูลอิสระ	9
กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ	10
วิตามินซี	11
แคลเซียมคลอไรด์	12
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	13
สถานที่ทำการทดลอง	13
การเตรียมพืช	13
การให้สารละลายชนิดต่างๆ	14
การศึกษาดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์	14
การศึกษาดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนก๊าซ	15
การวัดปริมาณ malondialdehyde	15
การวัดปริมาณการรั่วไหลของไอออน	16

หน้า
การประเมินปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเนื้อเยื่อใบ 16
การประเมินปริมาณซุปเปอร์ออกไซด์ในเนื้อเยื่อใบ 16
การตรวจสอบการตายของเซลล์ในเนื้อเยื่อใบ 17
การทำ Semi-quantitative RT-PCR 17
การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์สถิติ 18
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ 19
ผลการทดลอง 19
การทดลองที่ 1 การทดลองหาช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการประเมินการทนร้อนในต้นกล้ามะเขือเทศ 19
การทดลองที่ 2 การศึกษาหาอิทธิพลของสารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อน 20
การทดลองที่ 3 การทดสอบความจำเพาะของแคลเซียมไอออนในการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อน 28
การทดลองที่ 4 การตรวจสอบการแสดงออกของยีน Heat Shock Protein ในต้นกล้ามะเขือเทศที่ได้รับสารละลายเกลือ 35
วิจารณ์ผลการทดลอง 37
บทบาทของแคลเซียมและวิตามินซีต่อการทำงานของปฏิกิริยาแสงในสภาพอุณหภูมิสูง 37
บทบาทของแคลเซียมและวิตามินซีต่อการดูดซึมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาพอุณหภูมิสูง 38
แคลเซียมและวิตามินซีต่อการรักษาเสถียรภาพของเยื่อหุ้มไขมันในเซลล์ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูง 39
บทบาทของแคลเซียมและวิตามินซีต่อปริมาณ ROS ภายในเซลล์ในสภาพอุณหภูมิสูง 39
น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง 40
การพ่นสารละลายแคลเซียมที่มีผลต่อการแสดงออกของยีน HSP 41
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 42
บรรณานุกรม 43
ภาคผนวก 55
ภาคผนวก ก ประวัติผู้วิจัย 56

MAEJO UNIVERSITY

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงสารละลายปุ๋ยสูตร Hoagland สูตร A ความเข้มข้น 100 เท่า	13
2	แสดงสารละลายปุ๋ยสูตร Hoagland สูตร B ความเข้มข้น 100 เท่า	14
3	แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ในการทำ Semi-Quantitative RT-PCR	18

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงค่า ϕ_{PSII} ของต้นกล้ามะเขือเทศ ที่อยู่ในห้องควบคุม 25 องศาเซลเซียส /25 องศาเซลเซียส (กลางวัน/กลางคืน) และ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 4 6 8 และ 12 วัน (n = 4)	19
2	แสดงค่า F_v/F_m ของต้นกล้ามะเขือเทศหลังอยู่ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส /25 องศาเซลเซียส (กลางวัน/กลางคืน) และ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 4 6 8และ 12 วัน (n = 4)	20
3	แสดงผลของวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่า ϕ_{PSII} ในต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)	21
4	แสดงผลของวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อค่า F_v/F_m ในต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)	21
5	แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)	22
6	แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่ออัตราการคายระเหยของน้ำของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส /25 องศาเซลเซียส และ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4	23
7	แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อการนำไหลของปากใบของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)	23
8	แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณ MDA ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 ° เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)	24

ภาพที่		หน้า
9	แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อ % EL ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)	25
10	แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย DAB ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)	26
11	แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย NBT ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)	27
12	แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย Trypan blue ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)	27
13	แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่ 2 ในต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)	28
14	แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อค่า F_v/F_m ในต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)	29
15	แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)	29
16	แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่ออัตราการคายระเหยของน้ำของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)	30
17	แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อค่าการนำไหลของปากใบของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)	31
18	แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย DAB ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)	32

ภาพที่		หน้า
19	แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย NBT ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)	32
20	แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย Trypan blue ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)	33
21	แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อน้ำหนักสดของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)	34
22	แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อน้ำหนักแห้งของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)	34
23	แสดงแถบดีเอ็นเอของยีน HSP ที่ได้จากการทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้ cDNA จากต้นมะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง 6 ชั่วโมงเป็นต้นแบบ โดยใช้อุณหภูมิขั้น Annealing ที่ 56 °C (A) และ 58 °C (B) M คือ marker, A คือ actin, 1 คือ HSP 70, 2 คือ HSP 21, 3 คือ HSPmt, 4 คือ HSC 70	35
24	(a) แสดงผลการทำ semi-quantitative RT-PCR โดย M คือ marker, 1 คือ ตำรับถูกพ่นด้วยน้ำเปล่า (Control) , 2 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย $CaCl_2$, 3 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย $CaNO_3$, 4 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย $MgCl_2$ และ 5 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย KNO_3 (b) แสดงระดับการแสดงออกของยีน HSP21 และ HSC เมื่อเทียบกับ 18s RNA ในต้นกล้ามะเขือเทศเมื่อได้รับการพ่นด้วยสารละลายเกลือ 4 ชนิด และย้ายปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส /25 องศาเซลเซียส และ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง	36
25	(a) แสดงผลการทำ semi-quantitative RT-PCR โดย M คือ marker, 1 คือ ตำรับถูกพ่นด้วยน้ำเปล่า (Control) , 2 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย $CaCl_2$, 3 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย $CaNO_3$, 4 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย $MgCl_2$ และ 5 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย KNO_3 (b) แสดงระดับการแสดงออกของยีน HSP21 และ HSC เมื่อเทียบกับ 18s RNA ในต้นกล้ามะเขือเทศหลังจากได้รับการพ่นด้วยสารละลายเกลือ 4 ชนิด และย้ายปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส /25 องศาเซลเซียส และ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง	37

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

มะเขือเทศมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum Mill.* จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางตอนใต้ของทวีปอเมริกาเหนือและทวีปอเมริกาใต้ โดยเป็นที่นิยมปลูกมากในประเทศเม็กซิโก มะเขือเทศถูกนำเข้ามาในประเทศไทยผ่านทางประเทศจีน เอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เมื่อ 400 กว่าปีที่ผ่านมา และได้รับความนิยมในการบริโภคเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน มะเขือเทศเป็นผักเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย โดยมีพื้นที่การปลูกที่สำคัญอยู่ในภาคเหนือ และภาคอีสานเป็นหลัก ในแต่ละปีปริมาณการส่งออกมะเขือเทศสด และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแปรรูปมะเขือเทศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในปีพ.ศ. 2553 และ 2554 ประเทศไทยมีปริมาณการส่งออกมะเขือเทศอยู่ที่ 6,550 และ 6,840 เมตริกตัน ตามลำดับ (สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร, 2554)

มะเขือเทศจัดเป็นพืชผสมตัวเอง ใบสีเขียวเข้ม และมีขนอ่อนปกคลุม กิ่งก้านแผ่ออกทางด้านข้าง ลักษณะลำต้นตั้งตรงมีความสูงประมาณ 0.5-1.5 เมตร หรือลำต้นเลื้อยขนานกับดิน ดอกมะเขือเทศเป็นแบบสมบูรณ์เพศมีทั้งเกสรเพศเมีย และเพศผู้ในดอกเดียวกัน กลีบดอกมีสีเหลือง ภายในดอกเกสรเพศผู้กระจายตัวอยู่ล้อมรอบเกสรเพศเมีย ขยายพันธุ์โดยการผสมตัวเอง (Atherton and Rudich, 1986) รากมะเขือเทศเป็นระบบรากแก้ว หากรากแก้วไม่สามารถเจริญเติบโตหรือถูกทำลายจะมีการสร้างรากแขนง และรากพิเศษขึ้นมาแทน ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงไปได้ตามระบบปลูก เมล็ดมะเขือเทศมีลักษณะกลมแบนมีเปลือกหุ้มเมล็ดติดอยู่สีน้ำตาลอ่อนๆ มีขนาดแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ ลักษณะผลมีสีเขียว และเริ่มเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่อสุก ในบางพันธุ์มีสีแดงอมชมพู ในปัจจุบันมีการปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศให้มีลักษณะสีของผลที่หลากหลายมากยิ่งขึ้น (Andres and Perla, 2004)

สภาวะอุณหภูมิของโลกที่สูงขึ้นจากอดีตจนถึงปัจจุบันมีสาเหตุส่วนใหญ่มาจากการเพิ่มปริมาณการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกสู่ชั้นบรรยากาศ (พัชรี, 2552) ก๊าซเรือนกระจกอาจมีการปลดปล่อยมาจากกระบวนการตามธรรมชาติเช่น การลดลงหรือเพิ่มขึ้นของแม่น้ำลำคลอง การทับถมสิ่งมีชีวิตต่างๆ กระบวนการเมตาบอลิซึมของพืชเช่น การหายใจ การคายน้ำ โดยกระบวนการเหล่านี้ทำให้มีการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซมีเทนสู่ชั้นบรรยากาศ (พูนพิภพ, 2552) นอกจากนี้ก๊าซเรือนกระจกอาจเกิดจากกิจกรรมของมนุษย์เช่น การเผาไหม้เชื้อเพลิงจากการคมนาคมและการทำอุตสาหกรรมซึ่งปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยตรง รวมไปถึงการตัดไม้ทำลายป่า ก๊าซเรือนกระจกที่เพิ่มมากขึ้นนี้ส่งผลให้เกิดสภาวะเรือนกระจกซึ่งทำให้อุณหภูมิบนพื้นผิวโลกเพิ่มสูงขึ้น (Hollister and Webber, 2000; Shakeel et al., 2011) ส่งผลต่อกิจกรรมของสิ่งมีชีวิต รวมไปถึงการทำการเกษตรทั่วโลก

ผลกระทบที่เกิดจากสภาวะเครียดร้อนอาจทำให้กระบวนการทางสรีรวิทยาต่างๆ ของพืชผิดปกติ เช่น การงอก การติดเมล็ด การออกดอก แม้ว่าพืชบางชนิดที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนจะมีกลไกต่างๆ ในการป้องกันตัวเองจากสภาวะเครียดร้อน แต่ยังมีพืชอีกหลายชนิดที่ไม่สามารถปรับตัวได้

โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชที่มีถิ่นกำเนิดในเขตหนาว (Abbas and James, 1995) โดยทั่วไปแล้ว สภาวะอุณหภูมิสูงส่งผลกระทบต่อการผลิตพืชหลายชนิด เช่น ในข้าว สภาวะอุณหภูมิสูงมีผลทำให้การเจริญเติบโตและการติดเมล็ดลดลง และมีเมล็ดฝ่อจำนวนมาก (Krishnan et al., 2011) ในยางพารา พบว่าเมื่อได้รับอุณหภูมิสูงอาจส่งผลให้ต้นยางผลิตน้ำยางได้น้อยและน้ำหนักแห้งของยางพาราลดลง (Downes and Tonnet, 1985) ในผักกาดหอม พบว่าอุณหภูมิสูง 35 องศาเซลเซียส มีผลทำให้เกิดจุดช้ำสีน้ำตาลในใบ ส่งผลให้คุณภาพลดลงและไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ส่วนในมะเขือเทศและแตงโมพบว่ามีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของลำต้นส่วนยอดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อปลูกในสภาวะร้อนเกินกว่า 35 องศาเซลเซียส (Rosa et al., 2001) อุณหภูมิที่สูงกว่า 30 องศาเซลเซียส อาจส่งผลทำให้ข้าวสาลี พันธุ์ Gabo มีการติดฝักลดลง (Saini, 1983) และทำให้น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งรวมไปถึงการงอกของเมล็ดฝ้ายหลายสายพันธุ์ลดลง (Ashraf et al., 1994)

เป็นที่น่าสนใจว่าสภาวะอุณหภูมิส่งผลเสียกับพืชในหลายด้าน แต่อาจไม่ส่งผลเสียมากนักกับแมลงศัตรูพืชบางชนิดซึ่งมีกลไกป้องกันตัวเองจากสภาพอุณหภูมิสูง (Zhudong et al., 2004) เช่น หนอนเจาะสมอฝ้ายหากได้รับอุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส อาจมีการพักตัวในระยะดักแด้ ซึ่งในระยะนี้มีการเผาผลาญอาหารในระดับต่ำมากส่งผลให้หนอนเจาะสมอฝ้ายมีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาพอุณหภูมิสูง (Zhudong et al., 2004) สภาพอุณหภูมิที่เหมาะสมถือเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคพืช เช่น ในกรณีของเชื้อรา *Phytophthora citrophtthora.* P. ramorum และ *P. parasitica.* ซึ่งเป็นสาเหตุโรครากเน่า โคนเน่า พบว่าอุณหภูมิสูง 25-30 องศาเซลเซียส มีผลทำให้เส้นใยของเชื้อราเจริญเติบโตได้ดี (Metheron and Matejka, 1992 ; Paul and Marsha, 2015) และในเชื้อรา *Fusarium oxysporum.* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคเหี่ยวเหลือง พบว่าสามารถเข้าทำลายผักสลัดได้ดีเป็นพิเศษในสภาพอุณหภูมิสูง 33 องศาเซลเซียส (Scott and Gordon, 2010) ในเชื้อรา *Phoma betae.* ซึ่งทำให้เกิดโรคเน่าใน Sugarbeet พบว่าสามารถก่อโรคได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส (Warren, 1971) ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าสภาวะอุณหภูมิสูงนั้น มีแนวโน้มส่งเสริมให้เกิดการระบาดของโรคและแมลงมากกว่าปกติ

ในปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์ และการชักนำให้พืชทนร้อนเพื่อลดการสูญเสียของผลผลิตอันมีสาเหตุมาจากสภาวะอุณหภูมิสูง (สายชล, 2552) โดยทั่วไปการปรับปรุงพันธุ์ทนร้อนอาจแบ่งออกได้เป็น 2 ยุทธวิธี ยุทธวิธีที่หนึ่ง คือ การปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม ซึ่งใช้วิธีการผสมพันธุ์พืชที่มีความทนร้อนเข้ากับพันธุ์การค้า แล้วทำการคัดเลือกเมล็ดของต้นที่มีลักษณะทนร้อน แล้วทำการผสมกลับประมาณ 5-6 รุ่น จนได้ลักษณะที่นิ่งและมีการกระจายตัวน้อยที่สุด (สุทัศน์, 2010) วิธีนี้เป็นวิธีการที่ง่ายที่สุดแต่ใช้ระยะเวลายาวนานกว่าจะได้สายพันธุ์ใหม่ ยุทธวิธีที่สองคือ การปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม โดยหายีนที่สนใจจากสัตว์ พืช หรือจุลินทรีย์ต่างๆ มาถ่ายลงในพืชที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์โดยตรง เช่น ในกรณีของการปรับปรุงพันธุ์ให้พืชทนร้อนอาจนำยีนที่ควบคุมลักษณะการทนทานต่อความร้อนมาทำให้มีการแสดงออกมากขึ้นแล้วปลูกถ่ายลงในพืชที่ศึกษาเช่น การถ่ายยีน heat shock protein (HSP) เพื่อให้มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้น ซึ่งทำให้พืชทนทานต่อสภาวะร้อน (Elena, 2002) ถึงแม้ว่าการปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมนั้นจะใช้ระยะเวลารวดเร็ว และแม่นยำกว่าการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม แต่กลับไม่เป็นที่ยอมรับในปัจจุบันเนื่องจากผู้บริโภคส่วนใหญ่เข้าใจว่าเป็นการนำสิ่งแปลกปลอมจากสิ่งมีชีวิต

สายพันธุ์อื่นเข้ามาปลูกถ่ายให้พืชและอาจก่อให้เกิดอันตรายกับผู้บริโภคได้ (สุทัศน์, 2001) ดังนั้นพืชดัดแปลงพันธุกรรมจึงยังไม่ได้รับการยอมรับในหลายประเทศทั่วโลกรวมไปถึงในประเทศไทย

ถึงแม้ว่ายุทธวิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมนั้นมีข้อดีหลายด้าน แต่การได้พันธุ์ใหม่จากการปรับปรุงพันธุ์นั้นใช้ระยะยาวนาน มีต้นทุนสูง วิธีที่มีต้นทุนต่ำกว่าคือการให้สารเคมีบางชนิดกับพืชโดยตรง หนึ่งในสารที่ได้รับความสนใจมากที่สุดคือ วิตามินซี โดยมีการศึกษาพบว่าการให้วิตามินซีแก่พืชโดยตรงสามารถทำให้พืชมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเพิ่มมากขึ้นได้ เช่น การให้วิตามินซีกับ Arabidopsis สามารถช่วยให้การเจริญเติบโตและมีมวลแห้ง (biomass) มากขึ้น เมื่ออยู่ในสภาวะร้อน (Katherine et al., 2013) ในมะเขือเทศ หากแช่เมล็ดในสารละลายวิตามินซีความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ก่อนนำไปปลูกในสภาวะเค็ม ช่วยให้เมล็ดงอกมากขึ้น (Abed and Peter, 2001) และทำให้ผลผลิตของบล็อกโคลี่มากขึ้น เมื่ออยู่ในสภาวะร้อน (Schonhof et al., 2007) การพ่นวิตามินซีความเข้มข้น 0.6 มิลลิโมลาร์ ให้กับข้าวสาลี สามารถทำให้เกิดการติดฝักมากกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (Al-hakimi and Hamada, 2001) ในถั่วเหลือง เมื่อได้รับวิตามินซีความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ความยาวของราก ลำต้นส่วนยอด และน้ำหนักแห้งมากขึ้นภายใต้สภาวะเครียดเค็ม (Gholamreza et al., 2011) และการพ่นวิตามินซีความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้กับถั่วเหลืองในระยะ Vegetative phase ส่งผลให้น้ำหนักสด และน้ำหนังแห้งรวมไปถึงการติดฝักสูงขึ้นภายใต้สภาวะขาดน้ำ (Aril et al., 2010) ในกระเจี๊ยบแดง หากได้รับวิตามินซี 100 ส่วนในล้านส่วน ช่วยให้มีจำนวนกิ่ง ใบ ดอก จำนวนฝัก รวมไปถึงน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งมากขึ้น เมื่ออยู่ในสภาวะเค็ม (El-Quesni, 2009) ในต้นมะกอกพบว่าการให้วิตามินซี 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ใบมีขนาดใหญ่ และจำนวนใบมากขึ้น เมื่อถูกปลูกในสภาพเย็น (Zulaikha, 2013) ในข้าวโพด เมื่อได้รับวิตามินซี 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วยให้น้ำหนักแห้งของรากและน้ำหนักแห้งของลำต้นส่วนยอดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Atilla et al., 2013) การทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าวิตามินซีสามารถช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดีขึ้นในสภาวะที่ไม่เหมาะสม

นอกจากวิตามินซีแล้ว สารเคมีที่นิยมใช้เพื่อบรรเทาความเครียดของพืชอีกชนิดหนึ่งคือเกลือแคลเซียม เช่น ในฝ้าย (*Gossypium hirsutum L.*) พบว่าเมื่อได้รับการพ่นแคลเซียมคลอไรด์ มีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งให้มากขึ้นเพิ่มขึ้น ภายใต้สภาวะเค็ม (Amuthavalli et al., 2012) นอกจากนี้ยังช่วยให้รากของฝ้ายเจริญเติบโตได้ดีขึ้น เมื่อปลูกในสภาวะเค็ม (Grant et al., 1986) การพ่นแคลเซียมไนเตรทความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ให้กับถั่วฝักยาว (*Vigna unguiculata L. Walp.*) ส่งผลให้น้ำหนักแห้งของลำต้นส่วนยอดและรากเพิ่มสูงขึ้น (Bernardo et al., 2005) ในหญ้าหมอน้อย (*Plantago coronopus.*) พบว่ามีการเจริญเติบโตดีขึ้น หากพ่นแคลเซียมคลอไรด์ก่อนย้ายปลูกในสภาวะเค็ม (Koyro, 2006) ในมะเขือเทศ เมื่อได้รับการพ่นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ อาจช่วยให้อัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และผลผลิตเพิ่มมากขึ้น เมื่ออยู่ในสภาวะเค็ม (Lopez and Satti, 1996) และในสตรอเบอรี่ พบว่าการพ่นแคลเซียมคลอไรด์ ช่วยให้จำนวนใบ ดอก และผลผลิตเพิ่มสูงขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะเค็ม (Kaya et al., 2002) ใน *Atriplex spp.* พบว่าจำนวนราก ความยาวของราก ความยาวของลำต้นส่วนยอดมากขึ้น หากได้รับการพ่นสารละลายแคลเซียมไนเตรท 2.5 มิลลิโมลาร์ ก่อนปลูกลงในสภาพดินเค็ม (Bouzid and Youcef, 2009) ส่วนการแช่เมล็ด *Wimmera ryegrass.* ในแคลเซียมคลอไรด์ 1 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้ร้อยละ

ของการงอกเพิ่มสูงขึ้น (Marcar, 1986) และการแช่เมล็ดดอกหน้าแมว (*Viola tricolor var. hortensis*) ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ก่อนนำไปปลูกในสภาวะอุณหภูมิสูง 35 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ร้อยละการงอกเพิ่มสูงขึ้น (Beyoung et al., 1997)

การใช้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมมาพ่นให้กับพืชโดยตรง เป็นวิธีการที่มีต้นทุนต่ำเมื่อเทียบกับการชักนำให้พืชทนสภาวะเครียดด้วยวิธีการอื่นๆ รวมไปถึงมีความปลอดภัยต่อเกษตรกรและสิ่งแวดล้อม งานวิจัยนี้จึงศึกษาการใช้สารละลายเกลือแคลเซียม และวิตามินซีเพื่อชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนทานต่อสภาวะเครียดร้อน เพื่อให้ได้ข้อมูลที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในแปลงปลูก ในลำดับต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาการใช้สารละลายเกลือแคลเซียม และวิตามินซีเพื่อชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนทานต่อสภาวะเครียดร้อน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เทคโนโลยีการชักนำให้มะเขือเทศทนร้อนโดยการใช้สารเคมีที่ปลอดภัยต่อมนุษย์

ขอบเขตงานวิจัย

พืชที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาระยะต้นกล้าของมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อของบริษัทเจียไต๋ ทำการศึกษาประสิทธิภาพการทำงานของระบบการสังเคราะห์แสง การแลกเปลี่ยนก๊าซ การศึกษาปริมาณของอนุมูลอิสระรวมไปถึงการวัดปริมาณ lipid peroxidation ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดตัวหนึ่งว่าพืชเกิดภาวะเครียด ทำงานวิจัยที่ห้องปฏิบัติการทดลองและโรงเรือนสาขาพืชผัก ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

อุณหภูมิถือเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยทั่วไปแล้วพืชสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ที่อุณหภูมิประมาณ 0-35 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตนั้นมีความแตกต่างกันไปในแต่ละชนิดพืช (Zrobek, 2012) หากอุณหภูมิเพิ่มสูงเกินอาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการต่างๆ ภายในพืช เช่น การแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ กระบวนการการสังเคราะห์แสง กระบวนการหายใจ และกระบวนการเมตาบอลิซึมต่างๆ (Mirza et al., 2013) ดังจะได้กล่าวถึงต่อไปนี้

ผลกระทบของสภาวะอุณหภูมิสูงต่อกระบวนการต่างๆ ของพืช

การงอก

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อกระบวนการงอกของเมล็ด อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกมีความแตกต่างกันไปตามชนิดและสายพันธุ์ของพืชเช่น ข้าว (*Oryza sativa*.) มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกอยู่ที่ประมาณ 20-35 องศาเซลเซียส มะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*.) ที่ 15-27 องศาเซลเซียส, แตง (*Cucumis sativus*.) ที่ 25-30 องศาเซลเซียส (Johkan et al., 2011) พริก (*Capsicum* spp.) ที่ 20-30 องศาเซลเซียส แครอท (*Daucus carota*.) ที่ 15-25 องศาเซลเซียส และผักกาดหอม (*Lactuca sativa*.) ที่ 15-20 องศาเซลเซียส เป็นต้น (Saitoh, 2008) มีการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิสูงต่อการงอกของเมล็ดในพืชหลายชนิด เช่น ในมะเขือเทศ พบว่าหากได้รับอุณหภูมิสูงเกินกว่า 32 องศาเซลเซียส อาจส่งผลให้เมล็ดมีการงอกลดลงต่ำกว่าร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับเมล็ดที่เพาะในอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (Etan, 2002) ในข้าวสาลี พบว่าเมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส เมล็ดข้าวสาลีไม่สามารถงอกได้ซึ่งอาจเป็นเพราะเอมบริโอตายหรือเกิดการบาดเจ็บในระยะที่กำลังงอก (Essemine et al., 2010)

ระบบสืบพันธุ์ของพืช

กระบวนการสืบพันธุ์ของพืชไม่สามารถทำงานได้อย่างเป็นปกติเมื่ออยู่สภาวะอุณหภูมิสูงเกินความเหมาะสม (Mckee and Richards, 1998) ตัวอย่างเช่น มีการศึกษาพบว่ามะเขือเทศอาจไม่มีการติดผลหากได้รับอุณหภูมิสูงเกินกว่า 35 องศาเซลเซียส (Abdul and Stommel, 1995) เช่นเดียวกับในข้าวสาลีเมื่อได้รับอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่าผลผลิตลดลงกว่าร้อยละ 78 จำนวนเมล็ดลดลงร้อยละ 63 และน้ำหนักเมล็ดลดลงร้อยละ 29 เมื่อเปรียบเทียบต้นควบคุมที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (Gibson and Paulsen, 1999) ในถั่ว (*Phaseolus vulgaris* L.). ระยะที่ออกดอกแล้ว พบว่าหากได้รับอุณหภูมิสูง 35 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ร้อยละการติดผลลดน้อยลงเมื่อเทียบกับชุดความคุม (Gross and Kigel, 1994) และในผักกาด พบว่าหากได้รับอุณหภูมิสูง 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน มีการติดเมล็ดลดลงถึงร้อยละ 89 เมื่อเทียบกับต้นที่ได้รับอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (Angadi, 1999) นอกจากนี้งานวิจัยในดอกท้อ

(*Prunus persica* L.) ซึ่งพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ยอดเกสรเพศเมียไม่สามารถรองรับการผสมจากการงอกของละอองเกสรตัวผู้ได้ (Hedhly et al., 2005) และมีการติดผลลดลง (Kozai et al., 2004) มีการศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อสตรอเบอรี่สายพันธุ์ Nyoho และ Toyonoka โดยทำการปลูกเปรียบเทียบในสภาพอุณหภูมิ 30 และ 25 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสภาวะอุณหภูมิสูง 30 องศาเซลเซียส ทำให้จำนวนช่อดอก จำนวนดอกและผลของสตรอเบอรี่ทั้งสองสายพันธุ์ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Ledesma et al., 2008) ในต้นถั่วเหลืองระยะออกดอกหากได้รับอุณหภูมิสูง 38 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่ามีการงอกของละอองเกสรและติดฝักลดลงร้อยละ 22.7 และ 35.2 ตามลำดับ เมื่อเปรียบกับต้นที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าละอองเกสรมีการงอกลดลงเนื่องจากสภาวะเครียดร้อนซึ่งอาจเป็นสาเหตุสำคัญที่นำไปสู่การลดลงของการติดฝักของถั่วเหลือง (Djanaguiraman et al., 2013) ในถั่วเขียวสายพันธุ์ PI-271998 และ BBL-47 เมื่อปลูกในอุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน พบว่าเกสรเพศผู้ลดลงทั้งสองสายพันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุมที่ปลูกในอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส (Yaacov and Jaime, 1993) ในถั่วลิสง หากอุณหภูมิสูงเกินกว่า 35 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ความมีชีวิตและการงอกของละอองเกสรลดลง เช่นเดียวกับในพริก เมื่อได้รับอุณหภูมิสูง 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลามากกว่า 8 วัน ส่งผลให้มีการงอกละอองเกสรและความมีชีวิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับต้นควบคุมที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (Beny et al., 2001; Sato et al., 2000)

การเจริญเติบโตในส่วนใบและลำต้น

สภาวะอุณหภูมิสูงมีผลทำให้การเจริญเติบโตทางใบและลำต้นช้าหรือหยุดชะงัก (Prasad and Allen, 2006) สาเหตุสำคัญเนื่องมาจากความเครียดที่เกิดจากอุณหภูมิสูง อาจมีผลทำให้การแบ่งเซลล์และอัตราการยืดตัวและการขยายตัวของเซลล์เปลี่ยนแปลงไป (Prasad and Ristic, 2008) มีการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิสูงต่อการเจริญเติบโตของข้าวสาลี โดยพบว่าสภาวะอุณหภูมิสูง 35 องศาเซลเซียส ทำให้ความสูงของต้นข้าวสาลีลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกในอุณหภูมิปกติ (Rahman, 2004) ในต้นสบู่ดำ พบว่าหากได้รับอุณหภูมิสูงเกินกว่า 45 องศาเซลเซียส อาจทำให้เกิดการสูญเสียน้ำมากกว่าปกติ ซึ่งส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการผลิตชีวมวลในต้นสบู่ดำ และยังทำให้อัตราการเจริญเติบโตของลำต้นเหนือดิน ราก จำนวนราก และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรากของสบู่ดำลดลง (Al-Busaidi et al., 2012) ในอ้อยและข้าวฟ่าง ที่ถูกปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงพบว่ามีน้ำหนักแห้งลดลง (Ashraf and Hafee, 2004) รากและยอดชะงักการเจริญเติบโต รวมไปถึงทำให้ผลผลิตเกิดความเสียหาย และมีคุณภาพลดลง (Wahid, 2007)

การสังเคราะห์แสง

อุณหภูมิถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของพืช อุณหภูมิที่สูงเกินกว่าช่วงที่พืชใช้ในการเจริญเติบโตหรือมากกว่า 45 องศาเซลเซียส (Schuster et al., 1990) อาจส่งผลเสียต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของพืช เช่น ในยาสูบ พบว่าเมื่อปลูกในห้องควบคุมอุณหภูมิสูง 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีผลทำให้อัตราการสังเคราะห์แสง

ลดลงร้อย 38 เมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุมที่อยู่ในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Tan et al., 2011) และมีรายงานว่าหากอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นถึง 37 องศาเซลเซียส ในเวลากลางคืน ทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงของพืชลดลงถึงร้อยละ 22 เมื่อเทียบกับพืชที่อยู่ในอุณหภูมิที่เหมาะสมในเวลากลางคืน (Prasad, 2011) มีการศึกษาประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงในมะเขือเทศสองสายพันธุ์ คือ พันธุ์ Campbell-28 และพันธุ์ Nagcarlang โดยปลูกไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าค่าอัตราการสังเคราะห์แสงของทั้งสองพันธุ์ลดลง เมื่อเทียบกับต้นควบคุมที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Daymi et al., 2004) ในใบต้นโอ๊ค (*Quercus pubescens* L.) ก็เช่นเดียวกัน หากได้รับอุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส มีผลทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงของพืชลดลงมากกว่าร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับสภาพปกติ (Haldimann et al., 2004) ในข้าวสาลี ข้าว และพืชตระกูล *Solanum spp.* พบว่าเมื่อต้นกล้าถูกปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง 42 องศาเซลเซียส ระยะเวลาหนึ่ง มีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ และอัตราการสังเคราะห์แสงของต้นข้าวสาลีลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับต้นควบคุม (Langjun et al., 2006; Aien et al., 2011) ในฝ้ายและยาสูบ เมื่อปลูกในสภาพอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์รูบิสโก้ลดต่ำลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ส่งผลให้มีค่าอัตราการสังเคราะห์แสงลดลงต่ำลงเมื่อเทียบกับต้นควบคุม (Steven and Michael, 2000)

อุณหภูมิสูงอาจส่งผลให้ปากใบปิด ทำให้อัตราการคายน้ำและอัตราการสังเคราะห์แสงลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาเหล่านี้อาจเกิดขึ้นได้เมื่อพืชตกอยู่ในสภาวะเครียดรูปแบบอื่นๆ เช่นเดียวกัน ดังนั้นอัตราการนำไหลของปากใบจึงเป็นดัชนีสำคัญที่มีผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของพืช จากศึกษาการตอบสนองของปากใบภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงในต้นยูคาลิปตัส (*Eucalyptus haemastoma*) พบว่าเมื่อปลูกในอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส อัตราการนำไหลของปากใบลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับต้นควบคุม (Eamus, 2008) ในองุ่น (*Vitis vinifera*) พันธุ์สีเขียว เมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 4 วัน ส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์แสงและอัตราการนำไหลของปากใบลดลงมากกว่าร้อยละ 95 และพันธุ์สีม่วง พบว่ามีอัตราการสังเคราะห์แสงลดลงถึงร้อยละ 60 และอัตราการนำไหลของปากใบลดลงร้อยละ 15-30 เมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม (Greer and Weedon, 2012; Greer and Weston, 2010) ในต้น *Larrea tridentate* เมื่อถูกปลูกในสภาวะอุณหภูมิสูง 53 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 360 550 และ 700 ไมโครโมลต่อโมล พบว่าที่ระดับความเข้มแสง 700 ไมโครโมลต่อโมล มีค่าอัตราการสังเคราะห์แสงลดต่ำลงซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากจำนวนปากใบที่ลดลงหรือปากใบปิด (Erik et al., 2000)

อนุมูลอิสระและ Reactive Oxygen Spices

อนุมูลอิสระ (free radical) คือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (Unpaired electron) อยู่วงรอบนอกสุด ทำให้เป็นโมเลกุลที่ไม่มีความเสถียร จึงต้องแย่งอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นๆ (เรียกว่ากระบวนการออกซิไดซ์) เข้ามาเพื่อให้เกิดความเสถียร (Halliwell and Gutteridge, 1999 อ้างโดย รัตนา, 2555) โมเลกุลรอบข้างที่ถูกแย่งอิเล็กตรอนไปจะกลายเป็นอนุมูลอิสระโมเลกุลใหม่ ซึ่งทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ ต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ไม่มีที่สิ้นสุด หากพืชอยู่ใน

สภาวะเครียดปริมาณอนุมูลอิสระภายในเซลล์พืชจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและอาจก่อให้เกิดความเสียหายแก่ส่วนประกอบของเซลล์จนทำให้เซลล์ตายได้ในที่สุด

Reactive Oxygen Species หรือ ROS คือกลุ่มสารที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบและมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยา โดยสามารถเป็นออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มของ ROS ที่เป็นอนุมูลอิสระ ตัวอย่างเช่น ไฮดรอกซิล เรดิคอล ($HO^{\bullet}$) ซุปเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{-\bullet}$) ไฮโดรเปอร์ออกซิล ($HO_2^{\bullet}$) คาร์บอเนต ($CO_3^{-\bullet}$) เป็นต้น และอีกกลุ่มคือกลุ่มของ ROS ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระแต่สามารถก่อให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์ได้ ตัวอย่างเช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) โอโซน (O_3) เปอร์ออกซิเดส (ROOH) เป็นต้น ซึ่ง ROS เหล่านี้เกิดขึ้นในเซลล์พืชที่มีชีวิตอย่างเป็นปกติ แหล่งผลิต ROS ส่วนใหญ่อยู่ในคลอโรพลาสต์โดยกระบวนการสังเคราะห์แสง และไมโทรคอนเดรียโดยกระบวนการการหายใจ (Nirupama and Friedrch, 2000) พืชที่อยู่ในสภาวะปกติมีปริมาณ ROS ต่ำมาก แต่หากได้รับการกระตุ้นให้เกิดความเครียด อาจส่งผลให้กลไกในการกำจัด ROS ของเซลล์มีประสิทธิภาพด้อยลง และมีปริมาณ ROS เพิ่มสูงขึ้น (Yin et al., 2008) ตัวอย่างเช่น สภาพดินเค็มส่งผลให้เกิดการสร้าง ROS ในเนื้อเยื่อพืชเพิ่มมากขึ้น (Jaspers and Kangasijarvi, 2010) ในสภาพอุณหภูมิสูงเกินกว่า 30 องศาเซลเซียส พบว่าในรากโพธิ์ (*Ficus religiosa* L.) มีปริมาณ H_2O_2 มากขึ้น (Smitha et al., 2009) นอกจากนี้สภาวะเครียดอันเกิดจากสาเหตุอื่นๆ เช่น สภาวะอุณหภูมิต่ำ (low temperature) สภาวะแล้ง (drought stress) โลหะหนัก (heavy metal) การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคและแมลงศัตรูพืช (pathogen infection) การขาดธาตุอาหาร (nutrient deficiency) ก็อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ปริมาณ ROS ภายในเซลล์พืชเพิ่มสูงขึ้นได้เช่นกัน โมเลกุลของ ROS นั้นสามารถออกซิไดซ์ไขมัน เยื่อหุ้มเซลล์ โปรตีน ก่อให้เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์ (Mittler et al., 2010) และสามารถก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ขึ้นได้ ผ่านทางการออกซิไดซ์คู่เบสของสาย DNA (Akram and Fahad, 2006)

สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งปฏิกิริยาและการทำงานของอนุมูลอิสระ แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม หนึ่งคือสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่เป็นเอนไซม์ และสองคือกลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์ (รัตนา, 2555) สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระและ ROS ที่เกิดขึ้นในเซลล์มี 3 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) เอนไซม์ catalase (CAT) และเอนไซม์ peroxidase (POD) (Sies, 1993; Kruidenier and Verspaget, 2002; Wu and Cederbaum, 2003 อ้างโดย วรพล, 2555) ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่อยู่ในกลุ่มเอนไซม์ ยกตัวอย่างเช่น วิตามินซี วิตามินอี กลูต้าไธโอน แบต้าแคโรทีนเป็นต้น สารเหล่านี้สามารถหยุดการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้ (Sies et al., 1992) พืชหลายชนิดมีการตอบสนองต่อสภาวะเครียดโดยการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น มีการศึกษาปริมาณของ ROS รวมไปถึงกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ หลังจากต้นข้าวโพดขาดน้ำและขาดธาตุสังกะสีโดยพบว่าสภาวะสภาวะดังกล่าวส่งผลให้ความเข้มข้นของ ROS เพิ่มขึ้นและชักนำให้เกิดลิปิดออกซิเดชันขึ้นในเซลล์ รวมไปถึงพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD และ POD มีการเพิ่มขึ้นอย่างมาก ส่วนเอนไซม์ CAT มีการทำงานเพิ่มขึ้นเช่นกันแต่น้อยกว่าทั้งสองชนิดที่กล่าวมา (Wang and Jin,

2007) และในข้าวสาลี พบว่าเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT), glutathione reductase (GR) มีกิจกรรมเพิ่มมากขึ้นในสภาวะขาดน้ำ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยในต้นถั่วฮอร์สแกรม (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.)) ซึ่งพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ GR และ GPX เพิ่มสูงขึ้นในสภาวะขาดน้ำที่ชักนำโดยการให้สารโพลีเอธิลีนไกลคอล (Polyethylene glycol) (Savitha et al., 2012)

กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ

1. ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ

การป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ (Preventive antioxidant) เป็นการปกป้องไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระชนิดใหม่ขึ้นภายในเซลล์ โดยการทำให้อนุมูลมีความเสถียรก่อนไปทำปฏิกิริยากับสารอื่น เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ SOD ซึ่งทำงานโดย การเปลี่ยนอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ ไปเป็น H_2O_2 และน้ำ (Arora et al., 2002; Bayram et al., 2011) ดังสมการ

$$O_2^{\cdot-} + 2H \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

และเอนไซม์อีกชนิดคือเอนไซม์ CAT ทำหน้าที่เปลี่ยน H_2O_2 ไปเป็นออกซิเจนและน้ำ (Bayram et al., 2011) ดังสมการ

$$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

2. ยับยั้งหรือดักจับอนุมูลอิสระ

การยับยั้งหรือดักจับอนุมูลอิสระ (Scavenging antioxidant) เป็นการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระเพื่อให้อนุมูลอิสระมีความเสถียร ตัวอย่างเช่น วิตามินซี แบต้าแคโรทีน และกลูต้าไธโอนเป็นต้น (Valacchi et al., 2004) ดังสมการ

$$R^{\bullet} + AH \longrightarrow RH + A^{\bullet}$$

3. หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการสร้างอนุมูลอิสระ

การหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เป็นการหยุดปฏิกิริยาของการสร้างสารอนุมูลอิสระโดยการเติมหมู่ -OH ให้อิเล็กตรอนที่ไม่ครบคู่ โดยส่วนใหญ่แล้ววิตามินซีและวิตามินอีถือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญในการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ และยังสามารถส่งเสริมให้เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระทำงานได้ดีขึ้น (Burton and Traber, 1990; Frankel, 1998 อ้างโดย เจนจิรา และ ประสงค์, 2554)

วิตามินซี

วิตามินซี หรือ Ascorbic acid มีสูตรทางเคมีคือ $C_6H_8O_6$ มีชื่อสารเคมีตามระบบ IUPAC ว่า 2-oxo-L-threo-hexono-1,4- lactone-2,3-enediol มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 176.14 กรัม เป็นสารที่สลายตัวได้เร็วและสามารถละลายได้ดีในน้ำ (water soluble) พบมากในผลไม้สดและผักสด วิตามินทำหน้าที่เป็นโคเอ็นไซมในปฏิกิริยาที่มีการเติมหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) เมื่อวิตามินซีอยู่ในรูปสารออกฤทธิ์ (active) จะมีคุณสมบัติในการรีดิวซ์ ซึ่งสามารถทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระป้องกันโมเลกุลต่างๆ ภายในเซลล์พืชจากการถูกออกซิไดซ์ได้ (ปิยสิริ, 2551)

มีการศึกษาจำนวนมากที่แสดงให้เห็นว่าการให้วิตามินซีแก่พืชโดยตรงสามารถชักนำให้พืชมีความทนทานต่อความเครียดเพิ่มมากขึ้นได้ เช่น ในถั่วเหลือง เมื่อแช่เมล็ดในสารละลายวิตามินซีความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนนำไปปลูกในสภาวะเค็ม พบว่าสามารถชักนำให้ต้นกล้าถั่วเหลืองเจริญเติบโตได้ดีขึ้นในสภาวะดังกล่าว และมีกิจกรรมของเอ็นไซม์ CAT และ POD เพิ่มสูงขึ้น (Gholamreza et al., 2011) ในข้าวบาร์เล่ย์ พบว่าการแช่เมล็ดในสารละลายวิตามินซีความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ก่อนนำไปปลูกในสภาวะเค็ม ทำให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ POD CAT และ SOD เพิ่มสูงขึ้น (Agami, 2014) การพ่นสารละลายวิตามินซี 0.7 มิลลิโมลาร์ ให้กับต้นกล้าข้าวสาลีที่อยู่ในสภาพเค็มนาน 2 สัปดาห์ ทำให้มีปริมาณ H_2O_2 ในใบลดลง (Fercha et al., 2011) และยังทำให้อัตราการสังเคราะห์แสง อัตราการคายระเหยของน้ำและอัตราการนำไหลของปากใบมากกว่าต้นที่ได้รับน้ำเปล่าเพียงอย่างเดียว (Samina and Muhammad, 2012) ในข้าวสาลีสายพันธุ์ S-24 และ MH-97 หากได้รับการพ่นวิตามินซี 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 ชนิด (SOD CAT และ POD) เพิ่มสูงขึ้น น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของทั้ง 2 สายพันธุ์มากกว่าต้นควบคุม (Ameed et al., 2006) นอกจากนี้พบว่าการให้วิตามิน 0.5 มิลลิโมลาร์ กับฝ้ายส่งผลให้มีปริมาณ lipid peroxidation (MDA) ลดลง เมื่ออยู่ในสภาพที่ถูกชักนำให้เกิดสภาวะเครียดเค็ม และช่วยให้กิจกรรมของเอนไซม์ SOD APX AOX GPX และ POX เพิ่มสูงขึ้น (Emam and Helal, 2008) ในถั่วหัวช้างหรือถั่วชิกพี (*Cicer arietinum* L.) พบว่าการพ่นวิตามินซีทางใบความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ (Mohamed, 2008) และวิตามินซีความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ช่วยให้ปริมาณ MDA ลดลง (Abed and Peter, 2001) ในข้าวโพดสายพันธุ์ Chakwal-86 และ 6544-6 การให้วิตามินซีความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะแล้ง พบว่าทำให้ปริมาณคลอโรฟิลด์ อัตราการสังเคราะห์แสง ค่าการนำไหลของปากใบ และอัตราการคายระเหยของน้ำเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับต้นควบคุม (Samina and Muhammad, 2012) และการใช้วิตามินบี วิตามินซี และเบต้า-แคโรทีน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พ่นให้กับข้าวโพด สัปดาห์ละ 1 ครั้ง จนไปถึงระยะเวลาเก็บเกี่ยว ทำให้น้ำหนักแห้งของรากและยอดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และค่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD POD และ CAT เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม (Atilla et al., 2013) ในอัลฟาฟ่า พบว่าการเติมวิตามินซีลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้การงอกของเมล็ดมีประสิทธิภาพดีขึ้น รวมถึงน้ำหนักสดของอัลฟาฟ่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะเค็ม (Lila and Ali, 2006) การพ่นสารละลายวิตามินซี ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ให้กับชบา ทำให้อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น (Ei-Quesni et al., 2009)

แคลเซียมคลอไรด์

แคลเซียมหรือ Ca^{2+} เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ทั้งนี้แคลเซียมเป็นส่วนประกอบผนังเซลล์ โดยทำหน้าที่รักษาเสถียรภาพของโครงสร้างผนังเซลล์และมีส่วนช่วยให้ผนังเซลล์แข็งแรง (Easterwood, 2002) ควบคุมการขนส่งและแลกเปลี่ยนไอออน (Hadi and Karimi, 2012) แคลเซียมยังมีบทบาทเป็นตัวส่งสัญญาณภายในเซลล์ โดยสภาวะอุณหภูมิสูง สภาวะอุณหภูมิต่ำ เค็มจัด หรือแล้งจัด สามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ Ca^{2+} ภายในไซโทพลาสซึม (Hadi and Karimi, 2012) ซึ่งทำหน้าที่ส่งสัญญาณกระตุ้นให้พืชมีการปรับตัวและตอบสนองต่อสภาวะเครียดที่ได้รับ (Hasegawa et al., 2000)

ปัจจุบันมีการทดลองจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าการให้แคลเซียมกับพืชโดยตรงสามารถชักนำให้พืชทนร้อนได้เช่น ในหญ้า โดยการพ่นแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ก่อนการย้ายปลูกในสภาพควบคุมอุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียส ทำให้ lipid peroxidation ลดลง และค่ากิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าต้นควบคุม (Yiwei and Bingru, 2000) ในสาหร่ายทะเล (*Laminaria japonica*) เมื่อผสมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ลงในน้ำเลี้ยงสาหร่ายก่อนนำไปเลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิสูง พบว่ามีปริมาณ MDA ลดลง และมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Wang et al., 2009) นอกจากนี้แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ช่วยให้ Creeping bentgrass มีอัตราการเจริญเติบโตของลำต้นเหนือดิน อัตราการสังเคราะห์แสง ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ ประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สอง (F_v/F_m) และกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ SOD CAT และ POD เพิ่มขึ้น และปริมาณ MDA ลดลงเมื่ออยู่สภาวะอุณหภูมิสูง 35 องศาเซลเซียส (Fu and Huang, 2003) ในยาสูบ เมื่อได้รับวิตามินซี 20 มิลลิโมลาร์ พบว่าอัตราการสังเคราะห์แสงมากกว่าต้นควบคุมภายใต้อุณหภูมิสูง 42 องศาเซลเซียส ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแคลเซียมคลอไรด์ส่งเสริมให้กิจกรรมของเอนไซม์รูบิสโก้เพิ่มสูงขึ้น (Wei et al., 2011) ในมะเขือเทศพบว่าการให้สารละลายแคลเซียมซัลเฟตความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ทำให้ร้อยละการรั่วไหลของไอออนลดลง ค่าปริมาณน้ำสัมพัทธ์ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะเค็ม (Levent et al., 2007) และทำให้มะเขือเทศดูดธาตุอาหารได้มากกว่าต้นควบคุม เนื่องจากพบว่าความเข้มข้นของธาตุแคลเซียม โพแทสเซียม และไนโตรเจนในใบ (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) มากกว่าต้นควบคุม (Levent et al., 2007)

บทที่ 3
อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง

ในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ได้ทำงานทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนสาขาพืชผัก ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร และห้องปฏิบัติการ PT 308 ณ อาคารพืชศาสตร์และเทคโนโลยี คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เริ่มทำการทดลองตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2556 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2558

การเตรียมพืช

การทดลองทั้งหมดใช้ต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อของบริษัทเจียไต๋ โดยเมล็ดถูกเพาะในถาดที่บรรจุวัสดุเพาะประกอบด้วย ขุยมะพร้าว : พีทมอส (Klausmann) : ทราย ในอัตราส่วน 2 : 1 : 1 ภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส โดยใช้หลอดไฟ Light Emitting Diode (LED) 3000K : 5000K (1:1) เป็นแหล่งกำเนิดแสง ความเข้มแสง 150 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ตำรับละ 6 ซ้ำๆ ละ 6 ต้น เมื่อมีใบจริงขึ้น 1 คู่ ให้ปุ๋ยน้ำสูตร Hoagland ความเข้มข้น 0.5 เท่า ทุกวัน ปริมาณ 600 มิลลิลิตร ต่อหนึ่งถาด การเตรียมสารละลายปุ๋ยสูตร Hoagland (สูตร A และ B) ความเข้มข้น 100 เท่า ดัดแปลงมาจากสูตรของ Hoagland and Arnon (1950)

ตารางที่ 1 แสดงสารละลายปุ๋ยสูตร Hoagland สูตร A ความเข้มข้น 100 เท่า

สาร	ปริมาตร (g / น้ำ 1 L)
KNO_3	60.6
FeEDTA	3
$CaNO_3$	94.46

ตารางที่ 2 แสดงสารละลายปุ๋ยสูตร Hoagland สูตร B ความเข้มข้น 100 เท่า

สาร	ปริมาตร (g / น้ำ 1 L)
$NH_4H_2PO_4$	23.02
$MgSO_4$	24.65
H_3BO_3	0.15
$MnCl_2$	0.03
$ZnSO_4$	0.05
$CuSO_4$	0.012
$NaMoO_4$	0.008
KCl	0.37
$NiSO_4$	0.013

การให้สารละลายชนิดต่างๆ

เมื่อต้นกล้ามะเขือเทศมีอายุได้ประมาณ 3 สัปดาห์ ทำการพ่นวิตามินซี และแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 5 และ 10 มิลลิโมลาร์ โดยใช้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ต่อ 1 ตำรับ ภายใต้สภาวะห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นย้ายเข้าห้องควบคุมอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ทำการเก็บข้อมูลทุก 6 และ 12 วัน ส่วนการพ่นสารละลายให้กับมะเขือเทศเพื่อใช้ในงานการสกัด RNA พ่นด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) แคลเซียมไนเตรต ($CaNO_3$) แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) และโพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ย้ายต้นกล้าเข้าห้องควบคุมอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส ส่วนชุดควบคุมเก็บตัวอย่างก่อนย้ายเข้าห้องควบคุมอุณหภูมิสูง 8 ชั่วโมง แล้วทำการแช่ตัวอย่างใบในไนโตรเจนเหลวก่อนนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมความเย็น -80 องศาเซลเซียส เมื่อย้ายต้นกล้าเข้าห้องร้อนเก็บตัวอย่างใบทุก 6 8 12 และ 24 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาตัวอย่างใบเช่นเดียวกับตัวควบคุม

การศึกษาดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์

การศึกษาดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์ โดยการใช้เครื่อง Fluorescence Monitoring System (FMS-1) (Hansatech Instruments Ltd. ประเทศสหราชอาณาจักร) โดยเลือกวัดใบที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ (youngest fully expended leaves) ในการวัดค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (ϕ_{PSII}) โดยคำนวณจากสูตร

$$\phi_{PSII} = (Fm' - F_t)/Fm'$$

โดยที่ Fm' คือ maximal fluorescence during a saturating light flash

F_t คือ steady state fluorescence

ส่วนค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สอง (Maximum Quantum Efficiency of PSII หรือ F_v/F_m) ก่อนวัดทำการปิดไฟให้ต้นมะเขือเทศอยู่ในที่มืดนาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงทำการเก็บข้อมูล ค่า F_v/F_m คำนวณจากสูตร

$$F_v/F_m = (F_m-F_0)/F_m$$

โดยที่ F_m Maximal fluorescence from dark- adapted leaf

F_0 Minimal fluorescence from dark- and light-adapted leaf

การศึกษาดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนก๊าซ

การศึกษาดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนก๊าซทำโดยใช้เครื่อง Lci-Photosynthesis System (ADC BioScientific Ltd. ประเทศอังกฤษ) ภายใต้แสง 250 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ทำการวัดค่าอัตราการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis rate, A), ค่าอัตราการนำไหลของปากใบ (stomatal conductance, gs) และค่าอัตราการคายระเหยของน้ำ (Transpiratiom rate, E)

การวัดปริมาณ malondialdehyde

การวัดปริมาณ Malondialdehyde (MDA) ดัดแปลงจากวิธีของ Du and Bramlage (1992) นำแผ่นใบมะเขือเทศ 500 มิลลิกรัม มาบดในสารละลาย trichloroacetic acid (TCA) เข้มข้นร้อยละ 0.1 (น้ำหนัก/ปริมาตร) จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที ดูดสารละลายส่วนใสมา 0.5 มิลลิลิตร โดยใช้ปิเปตลงในหลอดทดลองหลอดใหม่ จากนั้นเติมสารละลาย thiobarbituric (TBA) เข้มข้นร้อยละ 0.5 ในสารละลาย (TCA) เข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และหยุดปฏิกิริยาด้วยการแช่ในกระบะน้ำแข็งทันที จากนั้นนำสารละลายที่ได้หมุนเหวี่ยงที่ 7,500 รอบต่อนาที นาน 5 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใสลงในหลอดคิวเวต ปริมาตร 1 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 532 และ 600 นาโนเมตร คำนวณปริมาณ MDA จากสูตร

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/g FW}) = [(A_{532}-A_{600})-(A_{440}-A_{600}) \times (8.4/147))]/15700] \times 10^6$$

การวัดปริมาณการรั่วไหลของไอออน

การวัดปริมาณการรั่วไหลของไอออน ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Jiang and Huang (2002) ใช้แผ่นใบมะเขือเทศจำนวน 6 วง เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ต่อหนึ่งซ้ำ ใส่แผ่นใบทั้งหมดลงในหลอดทดลองเติมน้ำปราศจากไอออน (deionized water) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แช่ไว้ 10 นาที จากนั้นเทน้ำออก ทำซ้ำจนครบ 3 ครั้ง แล้วปิดด้วยกระดาษฟอยล์เก็บไว้ในที่มืดทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าการนำไฟฟ้า (C1) เมื่อวัดค่าครั้งแรกเสร็จให้นำกระดาษฟอยล์ปิดปากหลอดทดลองกลับเหมือนเดิม และนำไปต้มในหม้อนึ่งความดันไอ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำหลอดทดลองออกจากหม้อนึ่งความดันไอ ปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง ทำการวัดค่าการนำไฟฟ้าอีกครั้ง (C2) และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณการรั่วไหลของไอออนจากสูตร

$$\%\text{การรั่วไหลของไอออน} = (C1) / (C2) \times 100$$

การประเมินปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเนื้อเยื่อใบ

การประเมินปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Ahammed et al. (2012) โดยทำการเจาะใบด้วยที่เจาะกระดาษได้เป็นวงใบจำนวน 6 วงต่อหนึ่งซ้ำ นำไปทำสุญญากาศในสารละลาย 3’3 - Diaminobenzidine (DAB) (SIGMA – ALDRICH) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า pH 3.8 เป็นเวลา 1 นาที หรือทำสุญญากาศจนกว่าสารละลาย DAB ซึมเข้าจนเต็มผิวใบ (สังเกตหากสารละลายซึมเข้าจนเต็มผิวใบแล้ว ใบมะเขือเทศจะจมลงในสารละลาย) นำบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำใบมาใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 1 มิลลิลิตร เติมเอทธานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดย DAB จะทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ได้ตะกอนสีน้ำตาล ต้มจนกว่าใบมะเขือเทศไม่เหลือส่วนสีเขียวติดอยู่ ทำการวิเคราะห์พื้นที่การติดสีโดยใช้โปรแกรม Image j

การประเมินปริมาณซุปเปอร์ออกไซด์ในเนื้อเยื่อใบ

การประเมินปริมาณซุปเปอร์ออกไซด์ โดยใช้สารเคมี nitroblue tetrazolium (NBT) ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Ramel et al. (2009) ทำโดยการเจาะใบด้วยที่เจาะกระดาษได้เป็นวงใบจำนวน 6 วงต่อหนึ่งซ้ำ นำไปทำสุญญากาศในสารละลาย NBT (SIGMA-ALDRICH) ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาทีหรือทำสุญญากาศจนกว่าสารละลาย NBT ซึมเข้าจนเต็มผิวใบ (สังเกตหากสารละลายซึมเข้าจนเต็มผิวใบแล้ว ใบมะเขือเทศจะจมลงในสารละลาย) นำบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นคีบใบมาใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 1 มิลลิลิตร เติมกรดอะซิตริก : กลีเซอรอล : เอทธานอล (1 : 1 : 3) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที หรือต้มจนกว่าใบมะเขือเทศไม่เหลือส่วนสีเขียวติดอยู่ โดยสารละลาย

NBT จะทำปฏิกิริยากับซุปเปอร์ออกไซด์ได้เป็นตะกอนสีฟ้า ทำการวิเคราะห์พื้นที่การติดสีโดยใช้โปรแกรม Image j

การตรวจสอบการตายของเซลล์ในเนื้อเยื่อใบ

การตรวจสอบปริมาณเซลล์ตายในใบทำโดยใช้วิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Huang et al. (2011) ทำโดยการเจาะใบด้วยที่เจาะกระดาษได้เป็นวงใบจำนวน 6 วงต่อหนึ่งซ้ำ ใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Trypan blue (SIGMA-ALDRICH) (working solution) 1 มิลลิลิตร (ในการเตรียม Stock solution ของสารละลาย Trypan blue ใช้ glycerol lactic acid และน้ำ อย่างละ 10 มิลลิลิตร จากนั้นใส่ phenol 10 กรัม และ Trypan blue 0.02 กรัม ผสมให้เข้ากัน แล้วนำมาเตรียม working solution โดยใช้ Trypan blue (stock solution) ต่อเอทานอลปริมาตร 1 : 1 (ปริมาตร/ปริมาตร)) นำไปต้มในอ่างน้ำควบคุณอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทิ้งไว้ในสารละลายที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เทสารละลาย Trypan blue ออกแล้วเติมด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรนำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที หรือต้มจนกว่าใบมะเขือเทศไม่เหลือส่วนสีเขียวติดอยู่ แล้วทำการวิเคราะห์พื้นที่การติดสีโดยใช้โปรแกรม Image j

การทำ Semi-quantitative RT-PCR

การสกัด RNA จากตัวอย่างใบมะเขือเทศใช้ชุด RNA GeneJET Plant RNA Purification Mini Kit (Thermo scientific) นำ RNA ที่ได้มาเป็นแบบเพื่อใช้ในการสังเคราะห์ cDNA ซึ่งใช้ในการสังเคราะห์ cDNA จะใช้ชุด cDNA RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo scientific) เมื่อได้ cDNA แล้วจึงนำไปทำ Semi-quantitative RT-PCR เพื่อตรวจสอบการแสดงออกของยีน Heat Shock Protein (HSP) โดยใช้เครื่องทำปฏิกิริยา PCR รุ่น BIO RAD (Bio-Rad Laboratories, Inc.) ทำ PCR จำนวน 38 รอบ อุณหภูมิในการทำ Denature ที่ 95 องศาเซลเซียส Annealing ที่ 58 องศาเซลเซียส และ Extension ที่ 72 องศาเซลเซียส ใช้ไพรเมอร์เพื่อเพิ่มจำนวนของยีน 3 ยีน คือ 1) Heat shock protein 21 (HSP21) 2) Heat shock protein 70 (HSP70) 3) Heat shock protein cognate (HSC) และใช้ไพร์เมอร์ 18S ribosome เป็นตัวควบคุม จากนั้นเมื่อทำปฏิกิริยา PCR เสร็จ ทำการวัดความเข้มของแถบดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส (Gel Electrophoresis) นาน 35 นาที แล้วเปรียบเทียบความเข้มของแถบดีเอ็นเอของยีน HSP กับ ตัวควบคุม 18S บนเจล โดยลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจเช็คการแสดงออกของยีน HSP แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ในการทำ Semi-Quantitative RT-PCR

ชื่อยีน	Forward	Reverse
HSP21	F: 5' TGGGAGACTTAAACGAGTGT 3'	R: 5' AGGAAGAAACAGAGCATCAG 3'
HSP70	F:5' ACCCATGAAAGTAGTGAACG 3'	R: 5' GTTGTGTCAATATGTTTCGG 3'
HSC	F: 5' TGCTGGAGGTGTTATGACCA 3'	R: 5' GACTCCTCTTGGTGCTGGAG 3'
18S	F: 5' CGACAGAAGGGACGAGAC 3'	R: 5' CGACAGAAGGGACGAGAC 3'

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์สถิติ

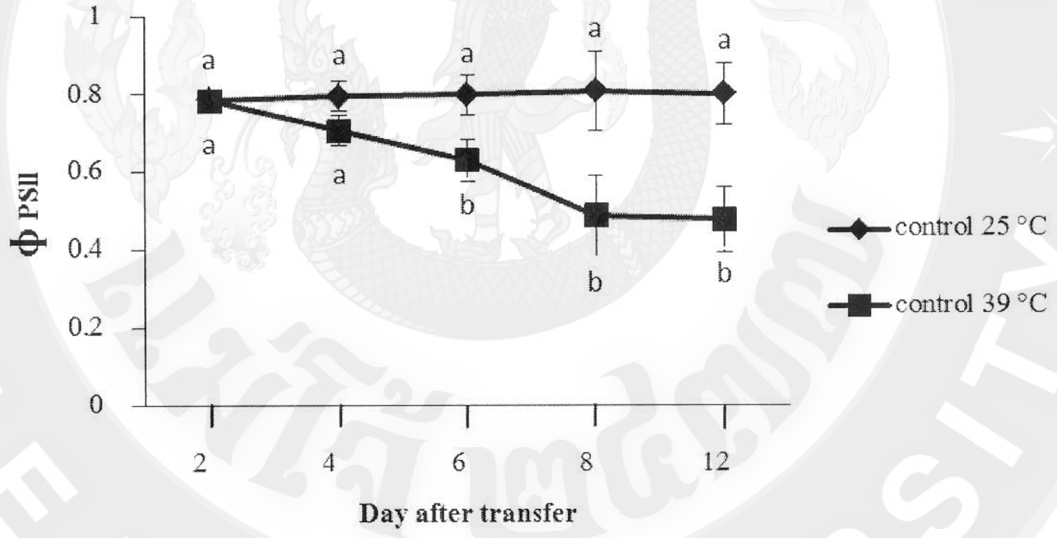
การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ หรือ Complete Randomize Design (CRD) หาค่าเฉลี่ย และวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลโดยใช้ ANOVA (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's New multiple Range Test (DMRT) จากโปรแกรมวิเคราะห์สถิติ Sirichai statistics 6.07

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลการทดลอง

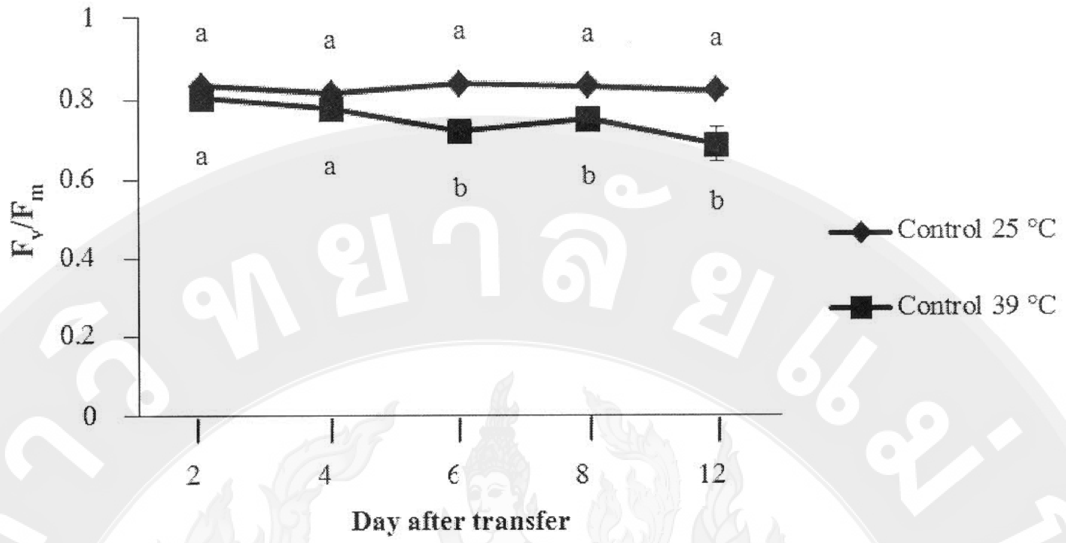
การทดลองที่ 1 การทดลองหาช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการประเมินการทนร้อนในต้นกล้ามะเขือเทศ

ในขั้นแรกของการทดลองได้ทำการหาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการประเมินการทนร้อนของมะเขือเทศ โดยใช้ค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง (ϕ_{PSII}) และค่าประสิทธิภาพการทำงานสูงสุดของระบบแสงที่สอง (F_v/F_m) เป็นตัวชี้วัด โดยใช้ต้นกล้ามะเขือเทศอายุ 3 สัปดาห์ ย้ายเข้าห้องควบคุมอุณหภูมิ 39 °C จากการทดลองพบว่าในช่วง 2 และ 4 วันแรกค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สองของต้นมะเขือเทศที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิสูงและอุณหภูมิห้อง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่ออยู่ในห้องนานมากกว่า 6 วัน พบว่าค่า ϕ_{PSII} ของต้นที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิสูงมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุมที่อยู่ในอุณหภูมิห้อง



ภาพที่ 1 แสดงค่า ϕ_{PSII} ของต้นกล้ามะเขือเทศ ที่อยู่ในห้องควบคุม 25 องศาเซลเซียส /25 องศาเซลเซียส (กลางวัน/กลางคืน) และ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 4 6 8 และ 12 วัน (n = 4)

ส่วนค่า F_v/F_m พบว่าในช่วง 2-4 วันหลังจากย้ายเข้าปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง พบว่าค่า F_v/F_m มีการลดลงเล็กน้อยแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นควบคุม แต่หลังจากนั้นค่า F_v/F_m ของต้นที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงมีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

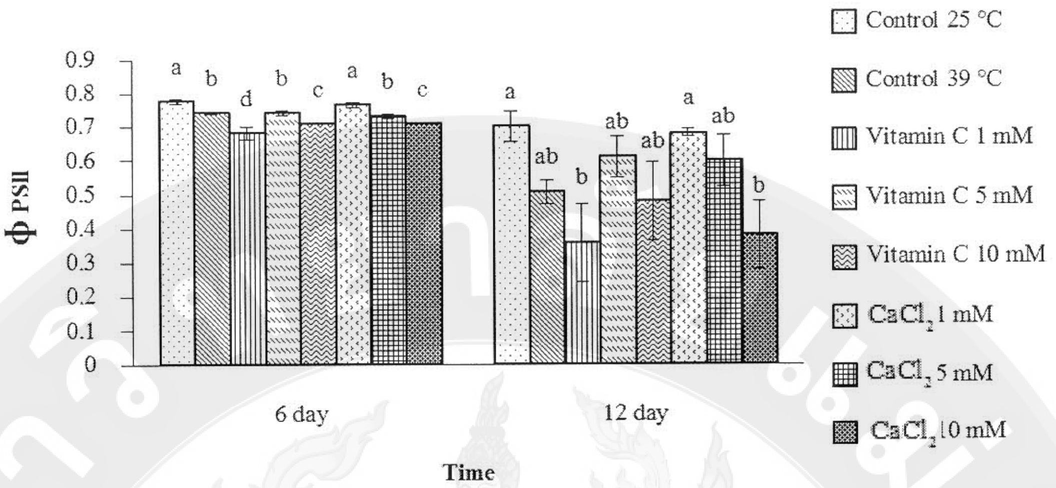


ภาพที่ 2 แสดงค่า F_v/F_m ของต้นกล้ามะเขือเทศหลังอยู่ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส / 25 องศาเซลเซียส (กลางวัน/กลางคืน) และ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 4 6 8 และ 12 วัน (n = 4)

ผลการทดลองที่ 1 แสดงให้เห็นว่าต้นมะเขือเทศอายุ 3 สัปดาห์ ที่ถูกย้ายเข้าปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานกว่า 6 วัน มีค่า ϕ_{PSII} ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นในการทดลองต่อไป จึงทำการย้ายปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานตั้งแต่ 6 วันขึ้นไปเพื่อชักนำให้เกิดความเครียดร้อนกับต้นกล้ามะเขือเทศ

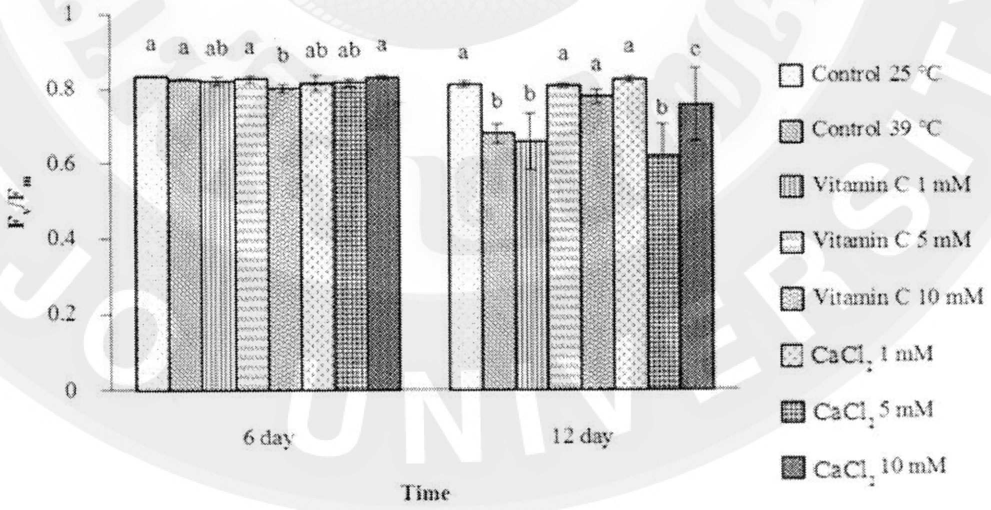
การทดลองที่ 2 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อน

การทดลองนี้ใช้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์พ่นให้กับต้นกล้ามะเขือเทศทางใบเป็นเวลา 1 วันก่อนย้ายเข้าห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส / 25 องศาเซลเซียส และ 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าเมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูงนาน 6 และ 12 วัน ต้นกล้ามะเขือเทศที่ได้รับน้ำเปล่ามีค่า ϕ_{PSII} ลดลงเมื่อเทียบกับต้นที่ควบคุม (ภาพที่ 3) ส่วนตำรับที่ได้รับการพ่นสารละลายวิตามินซี 5 มิลลิโมลาร์ และแคลเซียมคลอไรด์ 1 และ 5 มิลลิโมลาร์ก่อนย้ายปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส นาน 12 วัน พบว่ามีค่า ϕ_{PSII} สูงกว่าตำรับที่ได้รับน้ำเปล่าแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 3 แสดงผลของวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อค่า ϕ_{PSII} ในต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์ที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)

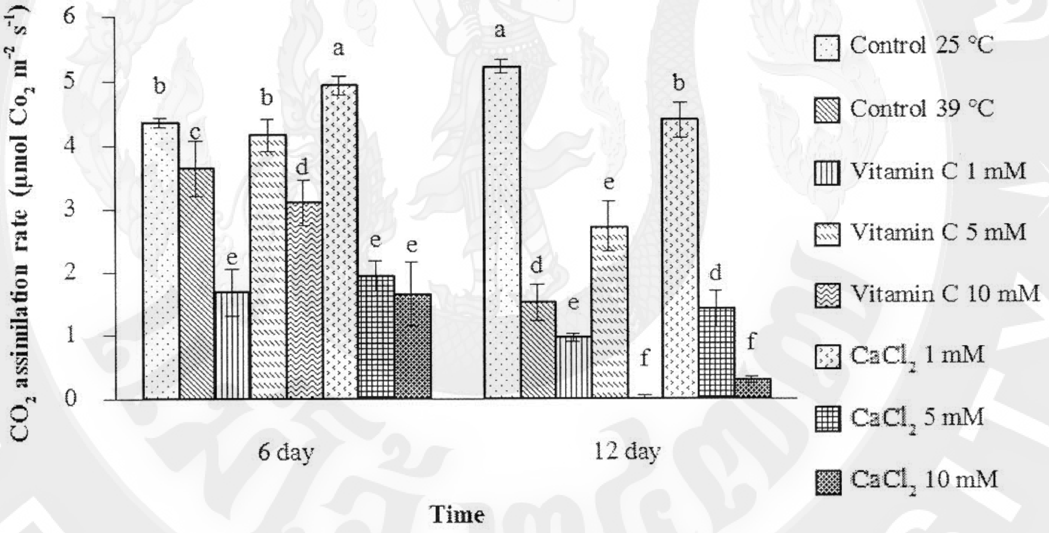
หลังจากย้ายต้นกล้ามะเขือเทศเข้าปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงเป็นเวลา 6 วัน พบว่าต้นควบคุมและต้นที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง รวมไปถึงต้นที่ได้รับสารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์มีค่า F_v/F_m ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 4) ยกเว้นต้นที่ได้รับวิตามินซี 10 มิลลิโมลาร์ ซึ่งมีค่า F_v/F_m ต่ำกว่าตำรับอื่น



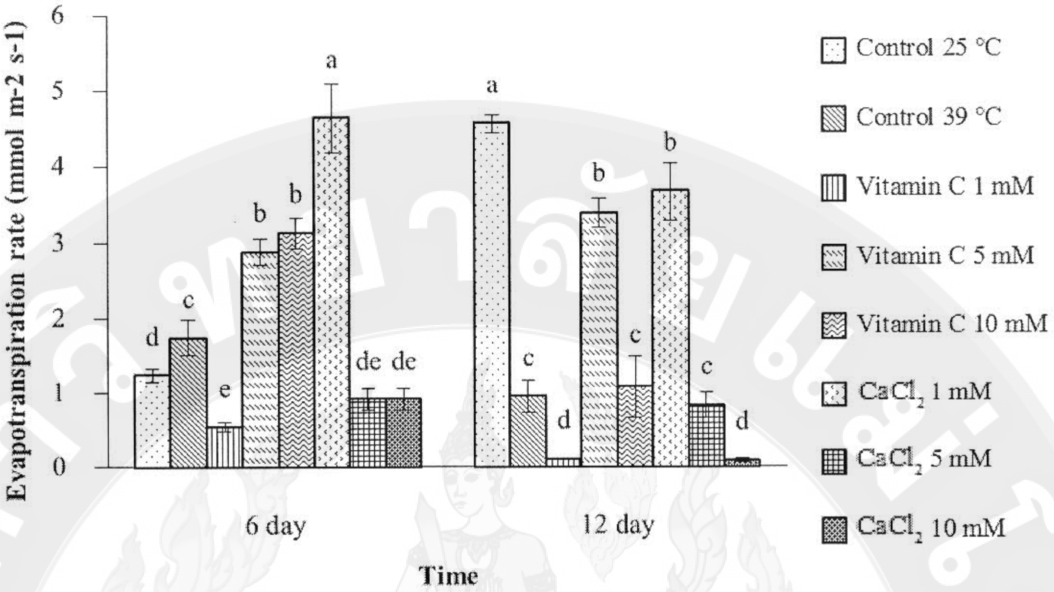
ภาพที่ 4 แสดงผลของวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ที่มีผลต่อค่า F_v/F_m ในต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)

เมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูงนาน 12 วัน พบว่าต้นควบคุมที่ได้รับน้ำเปล่ามีค่า F_v/F_m ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับต้นควบคุมในห้องอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส /25 องศาเซลเซียส ส่วนต้นที่ได้รับการพ่นวิตามินซี 5 และ 10 มิลลิโมลาร์ และแคลเซียมคลอไรด์ 1 มิลลิโมลาร์ มีค่า F_v/F_m สูงกว่าต้นควบคุมในสภาวะอุณหภูมิสูง (ภาพที่ 4)

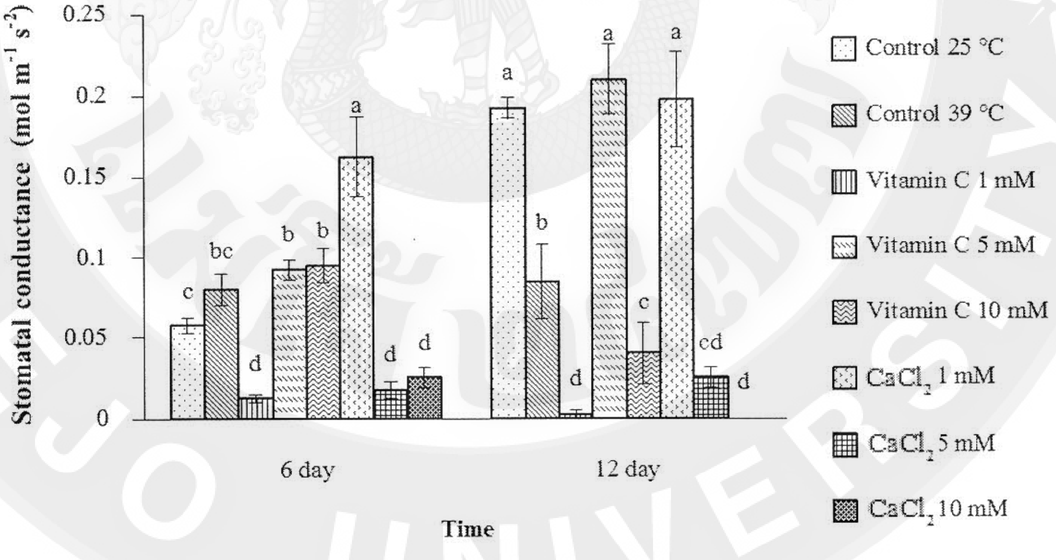
จากนั้นทำการวัดอัตราการสังเคราะห์แสงของต้นกล้ามะเขือเทศ โดยพบว่าต้นควบคุมที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิสูงนาน 6 และ 12 วัน มีอัตราการสังเคราะห์แสงลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับต้นควบคุมที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส /25 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 5) ส่วนต้นที่ได้รับสารละลายวิตามินซี 5 มิลลิโมลาร์ และแคลเซียมคลอไรด์ 1 มิลลิโมลาร์ พบว่ามีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงกว่าต้นควบคุมในสภาพอุณหภูมิสูง ในส่วนของอัตราการคายระเหยของน้ำและอัตราการนำไหลของปากใบพบว่า ค่าดังกล่าวมีการลดลง เมื่อต้นกล้าถูกย้ายปลูกในสภาวะอุณหภูมิสูงนาน 12 วัน (ภาพที่ 6 และ 7) การพ่นสารละลายวิตามินซี 5 มิลลิโมลาร์ และแคลเซียมคลอไรด์ 1 มิลลิโมลาร์ให้กับต้นกล้าก่อนย้ายปลูกในสภาวะอุณหภูมิสูง มีผลทำให้อัตราการคายระเหยของน้ำ และอัตราการนำไหลของปากใบสูงกว่าต้นควบคุม



ภาพที่ 5 แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)

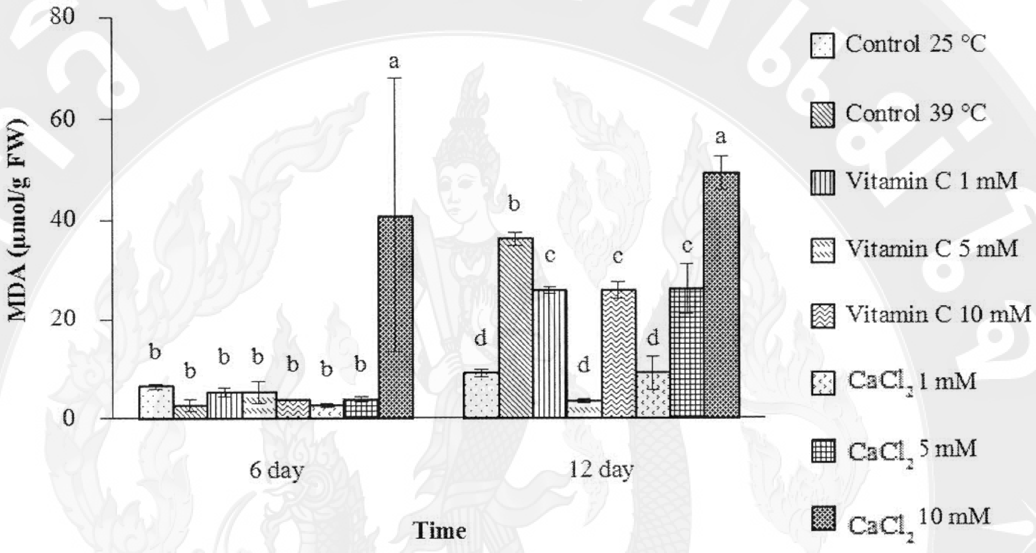


ภาพที่ 6 แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่ออัตราการคายระเหยของน้ำของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส /25 องศาเซลเซียส และ 39 องศาเซลเซียส/29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)



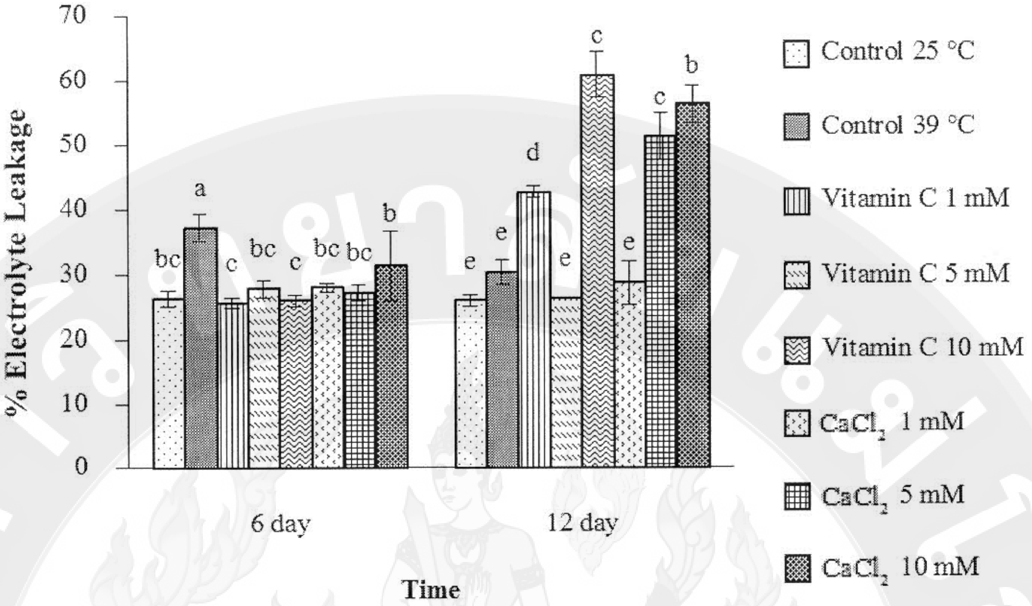
ภาพที่ 7 แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อการนำไหลของปากใบของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)

จากการทดลองพบว่าเมื่อต้นกล้ามะเขือเทศอยู่ในสภาพอุณหภูมิสูงนาน 12 วัน ปริมาณ MDA ในเนื้อเยื่อใบเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าต้นกล้าที่อยู่ในสภาพปกติ การให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์มีผลทำให้ปริมาณ MDA ลดลง ยกเว้นต้นกล้าที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ซึ่งมีปริมาณ MDA สูงกว่าตำรับอื่นๆ โดยความเข้มข้นของวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ที่สามารถทำให้ปริมาณ MDA ลดลงมากที่สุดคือ 5 และ 1 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 8



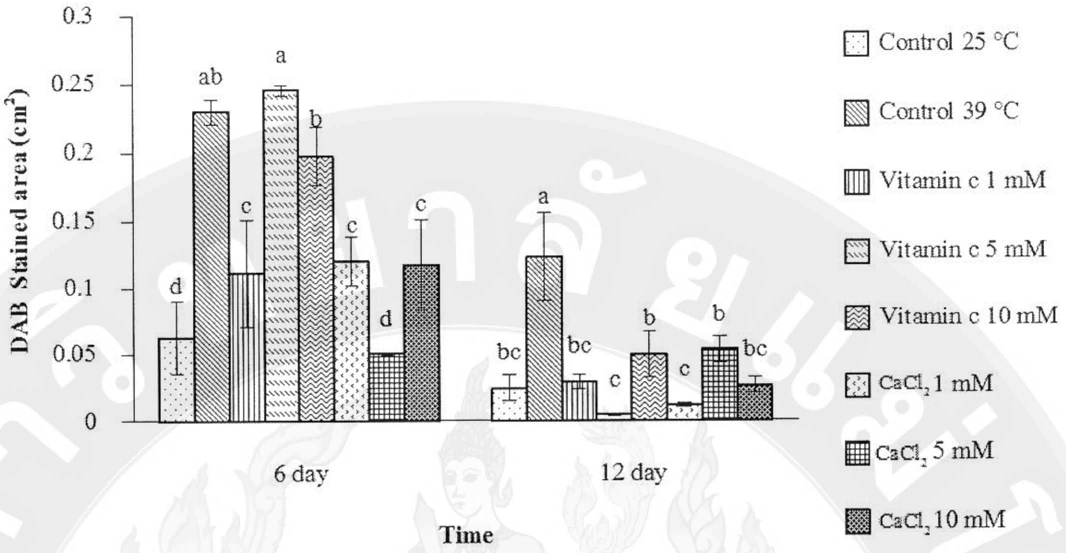
ภาพที่ 8 แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อปริมาณ MDA ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)

จากผลการทดลองในภาพที่ 9 เมื่อต้นกล้ามะเขือเทศถูกย้ายเข้าปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงนาน 6 วัน พบว่ามีค่าร้อยละการรั่วไหลของไอออน (% EL) สูงกว่าต้นควบคุมที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส / 25 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนต้นกล้าที่ได้รับสารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ทุกความเข้มข้นมีค่า % EL ต่ำกว่าชุดควบคุม หลังจากปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงนาน 12 วัน ต้นกล้าที่ได้รับน้ำเพียงอย่างเดียวมีค่า % EL สูงกว่าชุดควบคุมในห้องเย็นเช่นกัน โดยต้นที่ได้รับวิตามินซี 5 มิลลิโมลาร์ และแคลเซียมคลอไรด์ 1 มิลลิโมลาร์ มีค่า % EL ลดลงเมื่อเทียบต้นที่ได้รับวิตามินซีและแคลเซียมความในตำรับอื่นๆ ส่วนต้นที่ได้รับวิตามินซีความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิโมลาร์ แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีค่า % EL สูงกว่าต้นควบคุมในสภาพอุณหภูมิสูง



ภาพที่ 9 แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ ต่อ % EL ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)

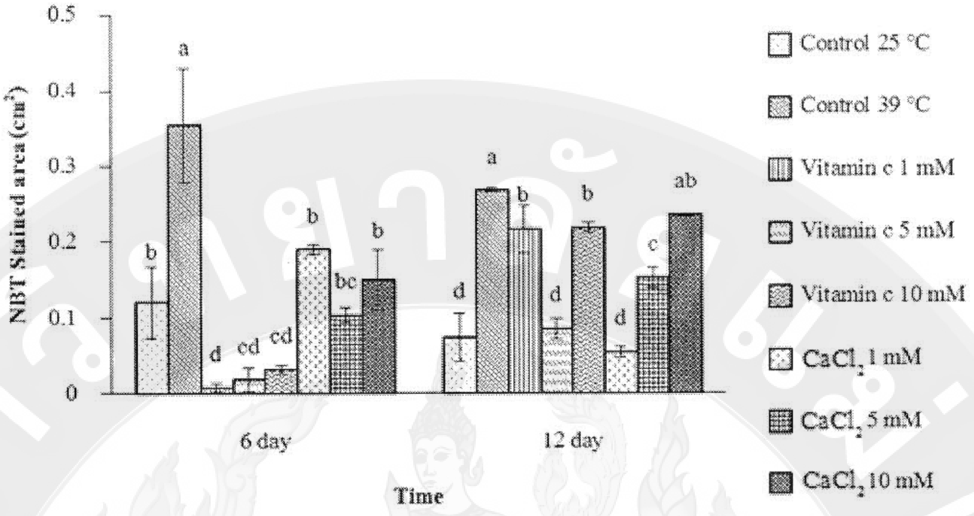
จากนั้นทำการตรวจสอบปริมาณของสารประกอบออกซิเจนที่มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยา (ROS) ได้แก่ H_2O_2 และ O_2^- ภายในเซลล์โดยการย้อมตัวอย่างใบมะเขือเทศด้วยสารละลาย DAB และสาร NBT ตามลำดับ พบว่าแผ่นใบจากต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงเป็นเวลา 6 และ 12 วันมีพื้นที่การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลาย DAB สูงกว่าแผ่นใบจากต้นที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส / 25 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 10) และการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ทุกความเข้มข้นมีผลทำให้พื้นที่การติดสีของสารละลาย DAB ของใบมะเขือเทศลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับต้นควบคุมในสภาพอุณหภูมิสูง



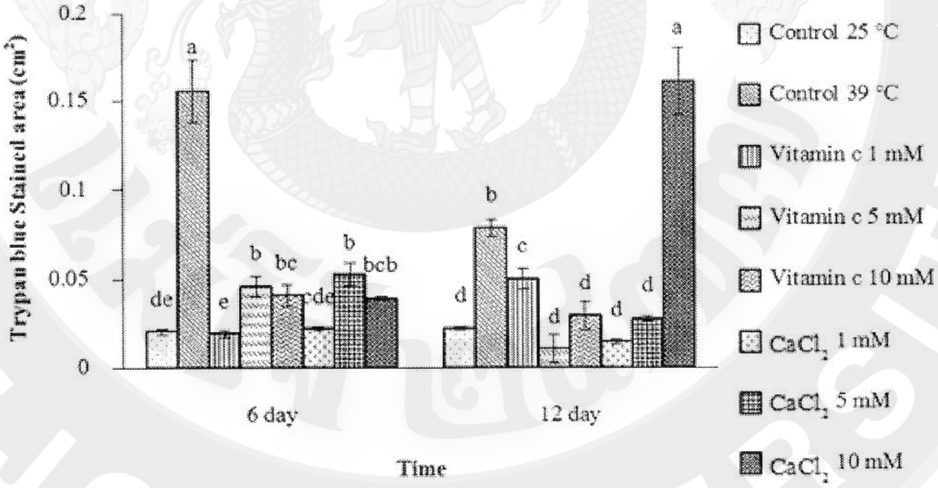
ภาพที่ 10 แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย DAB ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)

หลังจากย้ายต้นกล้ามะเขือเทศเข้าสู่สภาวะอุณหภูมิสูงนาน 6 วัน พบว่าพื้นที่การติดสีของสารละลาย NBT ของต้นควบคุมเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การพ่นวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ทุกระดับความเข้มข้นทำให้พื้นที่การติดสีของสารละลาย NBT ลดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อผ่านไป 12 วัน พบว่าต้นที่ถูกพ่นด้วยวิตามินซีทุกระดับความเข้มข้น และแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 และ 5 มิลลิโมลาร์ มีพื้นที่การติดสีของสารละลาย NBT ลดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ยกเว้นต้นที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ มีพื้นที่การติดสีของสารละลาย NBT ไม่แตกต่างจากต้นควบคุม ดังแสดงในภาพที่ 11

นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์การตายของเซลล์ในใบมะเขือเทศโดยการย้อมตัวอย่างด้วยสารละลาย Trypan blue พบว่าต้นควบคุมที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงเป็นเวลา 6 และ 12 วันมีพื้นที่การติดสีมากกว่าต้นควบคุมที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส / 25 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ และต้นที่ได้รับสารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ทุกความเข้มข้นมีพื้นที่การติดสีลดน้อยลง ส่วนต้นกล้าที่อยู่ในห้องควบคุมอุณหภูมิสูงนาน 12 วัน และพ่นด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ มีพื้นที่การติดสีมากกว่าต้นควบคุมทั้งในห้องควบคุมอุณหภูมิสูงและห้องอุณหภูมิปกติดังแสดงในภาพที่ 12



ภาพที่ 11 แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย NBT ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)

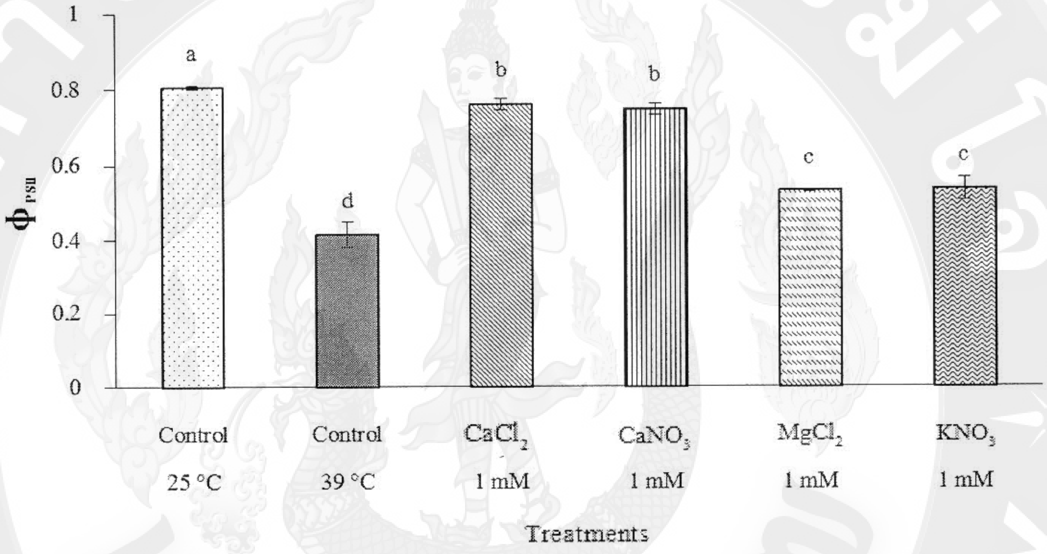


ภาพที่ 12 แสดงผลของการให้สารละลายวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย Trypan blue ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 วัน (n = 4)

MAEJO UNIVERSITY

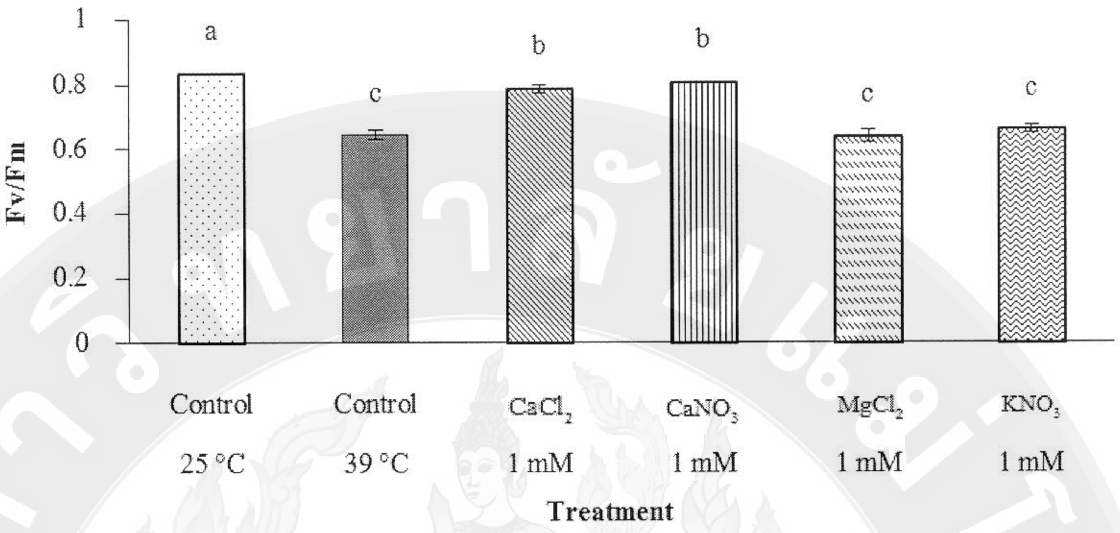
การทดลองที่ 3 การทดสอบความจำเพาะของแคลเซียมไอออนในการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อน

จากผลการทดลองที่ 2 แสดงให้เห็นว่าสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 1 มิลลิโมลาร์ สามารถชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในการทดลองทดลองที่ 3 จึงทำการทดสอบความจำเพาะของแคลเซียมไอออนในการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อน โดยการทดลองนี้ใช้การพ่นสารละลายเกลือ $CaCl_2$ $CaNO_3$ $MgCl_2$ และ KNO_3 ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ให้กับต้นกล้ามะเขือเทศ แล้วทำการประเมินดัชนีทางสรีรวิทยาของต้นกล้ามะเขือเทศที่ได้รับสารละลายในตำรับต่างๆ หลังจากย้ายเข้าปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงเป็นเวลา 12 วัน

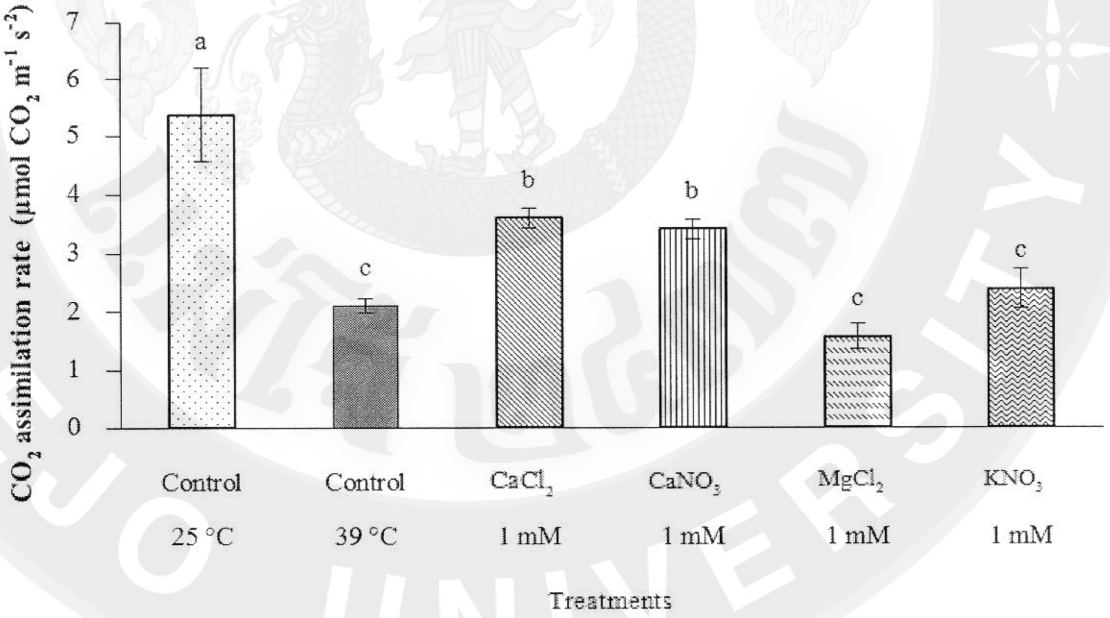


ภาพที่ 13 แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อค่าประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่ 2 ในต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)

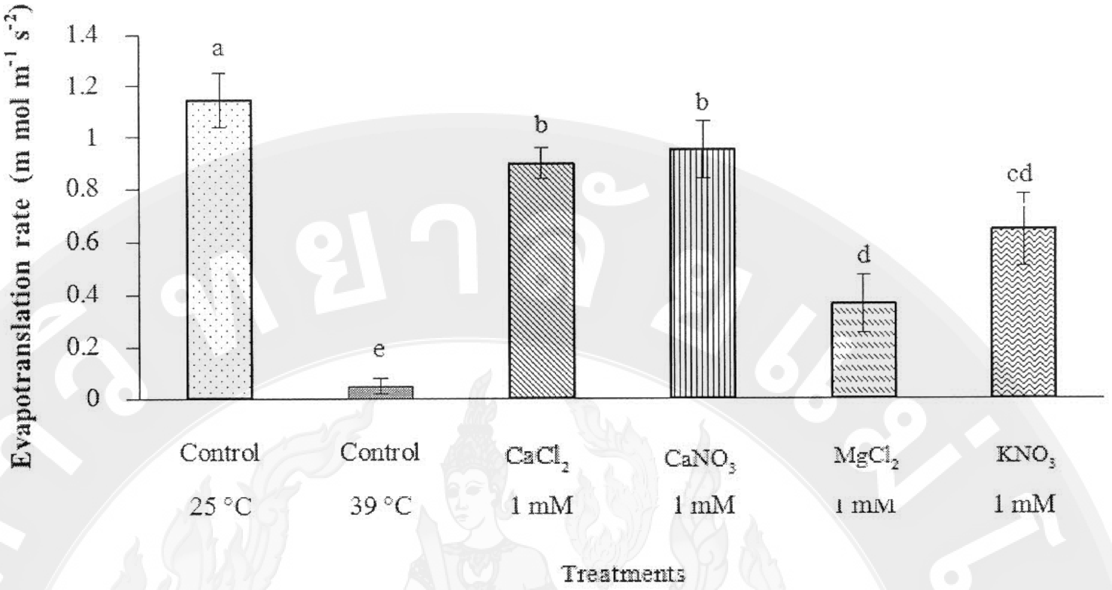
จากการทดลองพบว่าต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาวะอุณหภูมิสูง 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส นาน 12 วัน มีค่า ϕ_{PSII} และ F_v/F_m ต่ำกว่าต้นที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส / 25 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 13 และ 14) ส่วนต้นที่ได้รับสารละลายเกลือทุกชนิดมีค่า ϕ_{PSII} สูงกว่าต้นควบคุมในสภาพอุณหภูมิสูงอย่างมีนัยสำคัญ โดยต้นที่ได้รับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และแคลเซียมไนเตรทมีค่า ϕ_{PSII} สูงกว่าต้นที่ได้รับสารละลายในตำรับอื่นๆ (ภาพที่ 13) ในส่วนของค่า F_v/F_m พบว่าการพ่นสารละลายเกลือที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบมีผลทำให้ค่า F_v/F_m สูงกว่าต้นควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการพ่นสารละลายแมกนีเซียมคลอไรด์ และโพแทสเซียมไนเตรท ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ไม่มีผลทำให้ค่า F_v/F_m แตกต่างจากต้นควบคุมในสภาพอุณหภูมิสูง (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อค่า F_v/F_m ในต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)

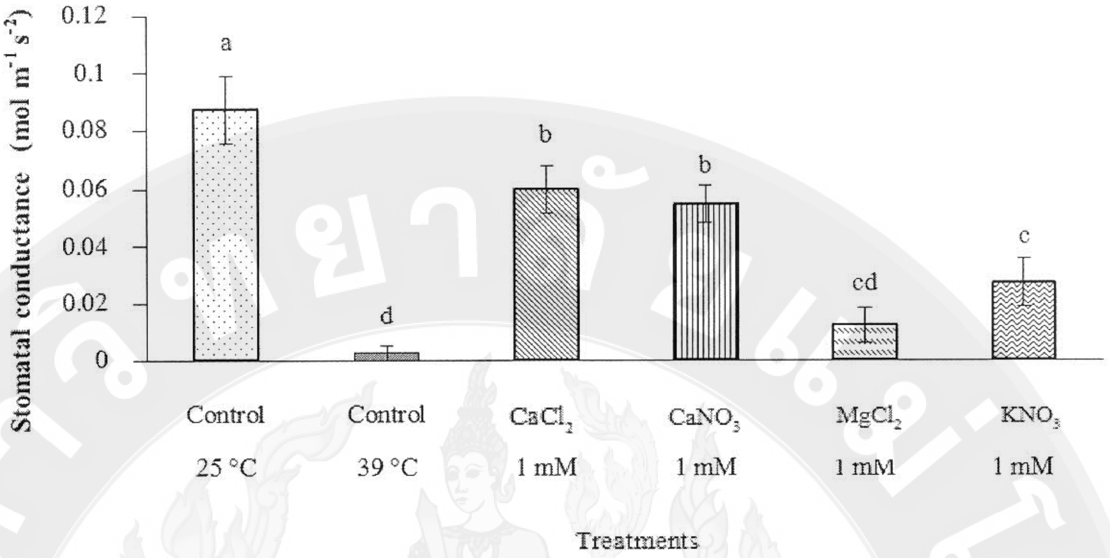


ภาพที่ 15 แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่ออัตราการสังเคราะห์แสงของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)



ภาพที่ 16 แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่ออัตราการคายระเหยของน้ำของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)

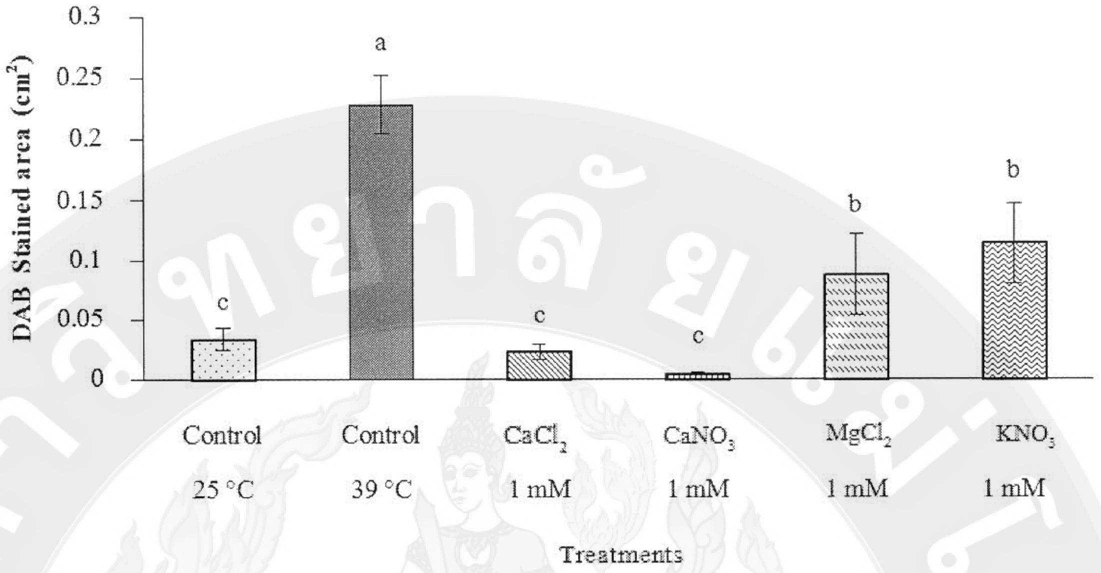
ต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาวะอุณหภูมิสูงเป็นเวลา 12 วัน พบว่ามีอัตราการสังเคราะห์แสง อัตราการคายระเหยของน้ำ อัตราการนำไหลของปากใบต่ำกว่าต้นควบคุมที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส / 25 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 15 16 และ 17) การพ่นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และแคลเซียมไนเตรตความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงของต้นกล้ามะเขือเทศเพิ่มสูงขึ้น ส่วนต้นที่ได้รับการพ่นสารละลายแมกนีเซียมคลอไรด์และโพแทสเซียมไนเตรตมีอัตราการสังเคราะห์แสงไม่แตกต่างจากต้นควบคุมในห้องควบคุมอุณหภูมิสูง (ภาพที่ 15) นอกจากนี้การพ่นสารละลายเกลือทุกตำรับยังส่งผลให้อัตราการคายระเหยของน้ำและอัตราการนำไหลของปากใบเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับต้นควบคุมที่ โดยการพ่นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และแคลเซียมไนเตรตความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้ค่าดังกล่าวเพิ่มสูงขึ้นมากที่สุด



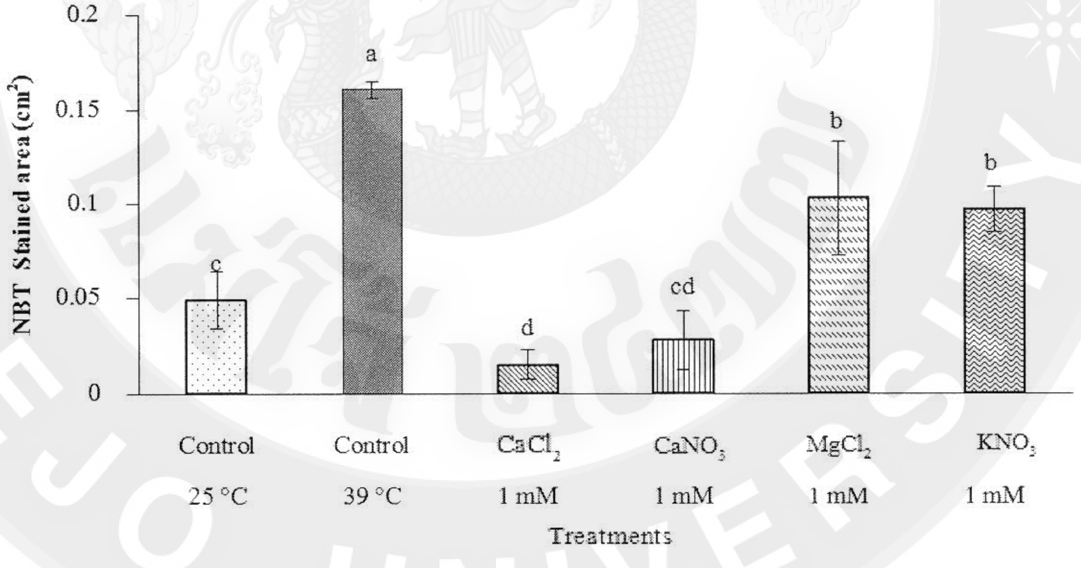
ภาพที่ 17 แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อค่าการนำไหลของปากใบของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)

จากนั้นทำการศึกษาปริมาณ ROS ภายในเซลล์ และการตายของเซลล์ด้วยการย้อมแผ่นใบด้วยสารลาย DAB NBT และ Trypan blue จากการทดลองพบว่าต้นควบคุมที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิสูงเป็นเวลานาน 12 วัน มีพื้นที่การติดสีของ DAB NBT และ Trypan blue มากกว่าต้นควบคุมที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส /25 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 18 19 และ 20) ส่วนต้นที่ได้รับการพ่นสารละลายเกลือทั้ง 4 ชนิด มีพื้นที่การติดสีของสารละลาย DAB และ NBT น้อยกว่าต้นควบคุมในสภาพอุณหภูมิสูง 39 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ โดยสารละลายที่ทำให้มีพื้นที่การติดสีน้อยที่สุด คือ สารละลายเกลือแคลเซียมคลอไรด์ และเกลือแคลเซียมไนเตรต (ภาพที่ 18 และ 19)

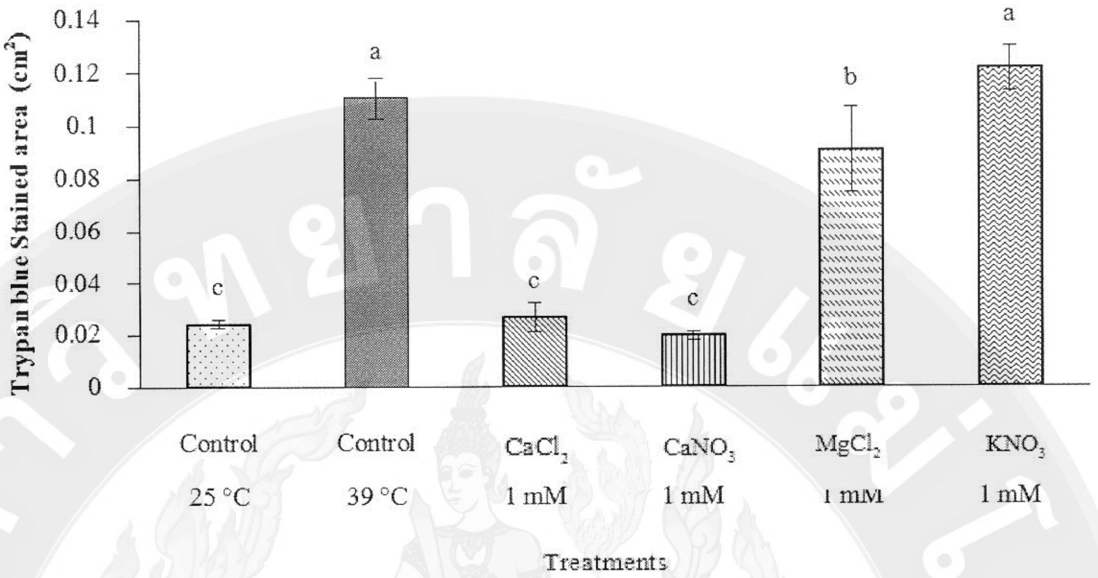
ในการย้อมแผ่นใบด้วยสารละลาย Trypan blue พบว่าต้นที่ได้รับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ แคลเซียมไนเตรต และแมกนีเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ มีพื้นที่การติดสีลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับต้นควบคุมในสภาพอุณหภูมิสูง ส่วนต้นที่ได้รับสารละลายโพแทสเซียมไนเตรตมีพื้นที่การติดสีของสารละลาย Trypan blue ไม่แตกต่างจากต้นควบคุมที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 18 แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย DAB ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)

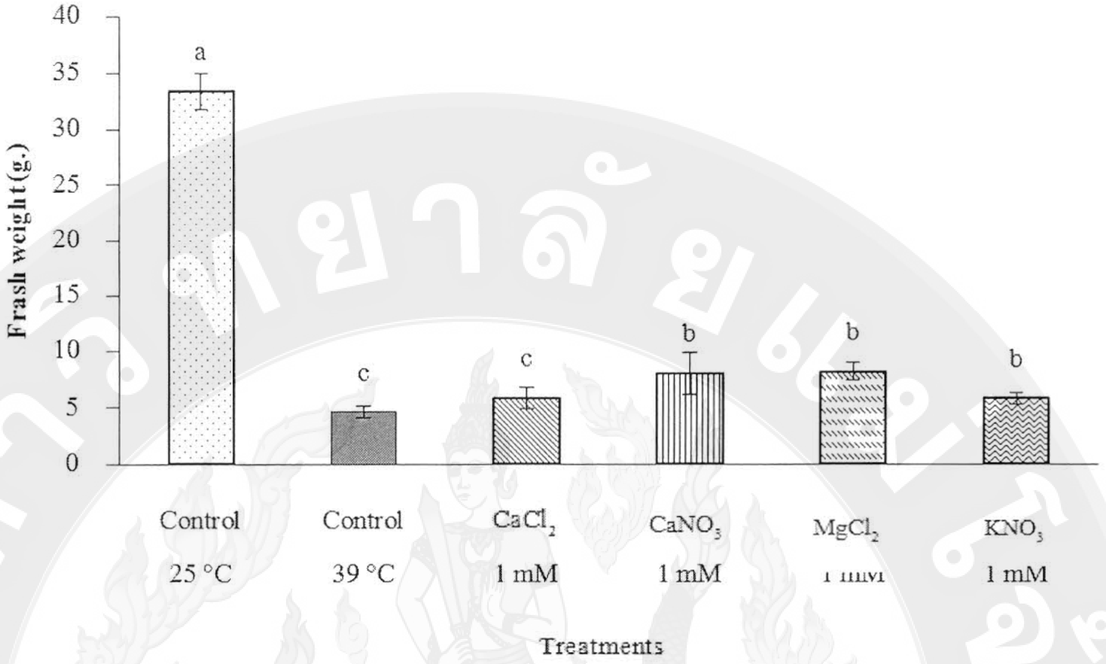


ภาพที่ 19 แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย NBT ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)

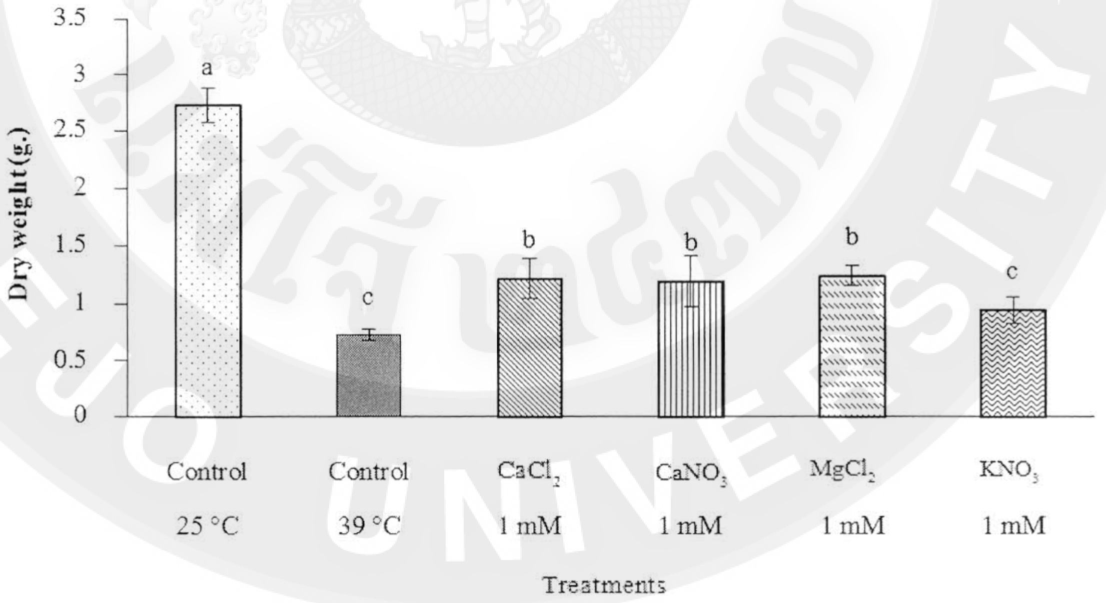


ภาพที่ 20 แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อพื้นที่การติดสีของสารละลาย Trypan blue ของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)

ต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วันมีปริมาณน้ำหนักสดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับต้นควบคุมในสภาพปกติ การพ่นสารละลายเกลือทั้ง 4 ชนิดทำให้ต้นกล้ามะเขือเทศมีน้ำหนักสดเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย ยกเว้นต้นที่ได้รับการพ่นแคลเซียมคลอไรด์ 1 มิลลิโมลาร์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับต้นควบคุมในห้องควบคุมอุณหภูมิสูง (ภาพที่ 21) จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักแห้งของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงนาน 12 วัน พบว่าต้นที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงมีน้ำหนักแห้งต่ำกว่าต้นที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิปกติอย่างมีนัยสำคัญ การพ่นสารละลายเกลือแคลเซียมคลอไรด์ เกลือแคลเซียมไนเตรต และเกลือแมกนีเซียมคลอไรด์ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นกล้ามะเขือเทศเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นแต่การพ่นเกลือโพแทสเซียมไนเตรตความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ที่ทำให้ต้นกล้ามะเขือเทศมีปริมาณน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกับต้นควบคุมในห้องควบคุมอุณหภูมิสูง (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อน้ำหนักสดของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)

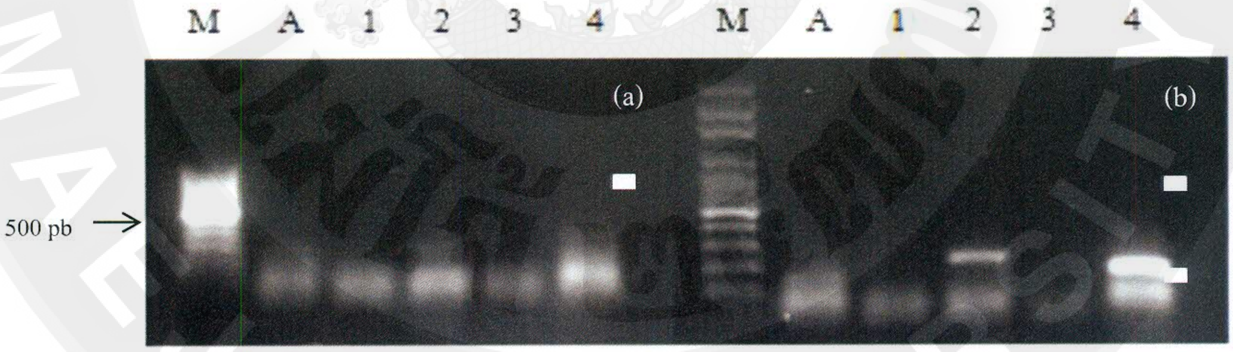


ภาพที่ 22 แสดงผลของสารละลายเกลือ 4 ชนิด ต่อน้ำหนักแห้งของต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน (n = 4)

การทดลองที่ 4 การตรวจสอบการแสดงออกของยีน Heat Shock Protein ในต้นกล้ามะเขือเทศที่ได้รับสารละลายเกลือ

การทดลองนี้เป็นการตรวจสอบการแสดงออกของยีน Heat Shock Protein (HSP) โดยใช้เทคนิค Semi-quantitative RT-PCR ในขั้นแรกได้ทำการหาอุณหภูมิขั้น Annealing เพื่อทำการสังเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีน HSP โดยใช้ cDNA ซึ่งสังเคราะห์มาจากอาร์เอ็นเอของใบมะเขือเทศที่ปลูกในสภาพ 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เป็นแม่แบบในการทำปฏิกิริยา PCR ส่วนการสังเคราะห์ชิ้นส่วน DNA ของ HSP 4 ยีน ประกอบด้วย 1) ยีนควบคุมภายใน (endogenous control) Actin (Marti et al., 2007) 2) ยีน Heat shock protein 70 (HSP70) 3) ยีน Heat shock protein cognate (HSC) (Li et al., 2011) และ 4) ยีน Heat shock protein 21 (HSP21) (Frank et al., 2009 ; Jakub, 2014) โดยอุณหภูมิ Annealing ที่ใช้คือ 56 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าแถบดีเอ็นที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นจากปฏิกิริยา PCR ไม่มีความคมชัด และมีแถบดีเอ็นเอส่วนเกินซึ่งอาจเป็น Primer Dimer เกิดขึ้น (ภาพที่ 23a) จึงทำการทดลองอีกครั้งโดยทำการเพิ่มอุณหภูมิขั้น Annealing เพิ่มเป็น 58 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่าแถบดีเอ็นเอมีความเข้มและชัดมากกว่า (ภาพที่ 23b) ซึ่งชิ้นส่วนดีเอ็นเอดังกล่าวพบในเลนที่ 2 และ 4 คือยีน HSP 21 และ HSC 70 ตามลำดับ ส่วนในเลนอื่นๆ ไม่พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (ภาพที่ 23)

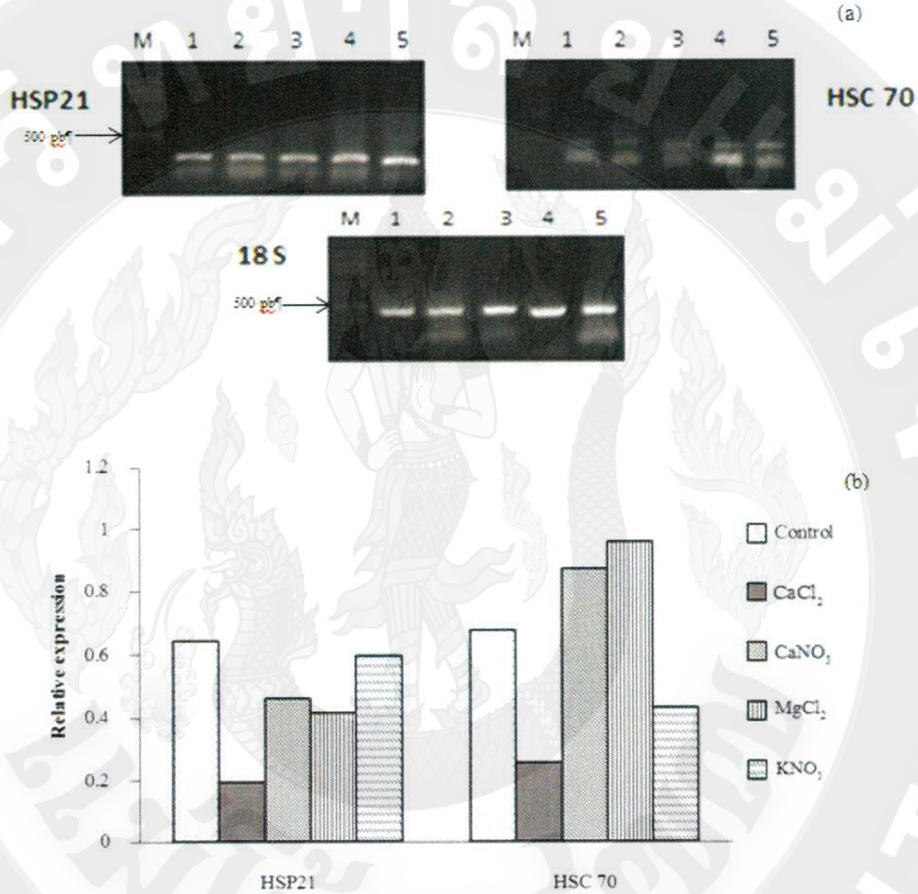
ดังนั้นจึงเลือกใช้อุณหภูมิขั้น Annealing ที่ 58 องศาเซลเซียส ในการทำปฏิกิริยา Semi-quantitative RT-PCR ต่อไปและเลือกทำกับเฉพาะยีนที่มีการแสดงออกในภาพที่ 23 คือยีน HSP 21 และ ยีน HSC 70 และในส่วนของยีนควบคุมภายในเปลี่ยนจากการใช้ Actin ไปเป็นยีน 18s ในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 23 แสดงแถบดีเอ็นเอของยีน HSP ที่ได้จากการทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้ cDNA จากต้นมะเขือเทศที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง 6 ชั่วโมงเป็นต้นแบบ โดยใช้อุณหภูมิขั้น Annealing ที่ 56 องศาเซลเซียส (A) และ 58 องศาเซลเซียส (B) M คือ marker A คือ actin 1 คือ HSP 70 2 คือ HSP 21 3 คือ HSPmt และ 4 คือ HSC 70

จากนั้นทำการตรวจสอบการแสดงออกของยีน HSP ในใบต้นกล้ามะเขือเทศที่ได้รับสารละลายเกลือชนิดต่างๆ จากการทดลองพบว่าต้นกล้ามะเขือเทศทุกตำรับ เมื่อถูกย้ายเข้าปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง 39 องศาเซลเซียส / 29 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง มีการแสดงออกของยีน HSP

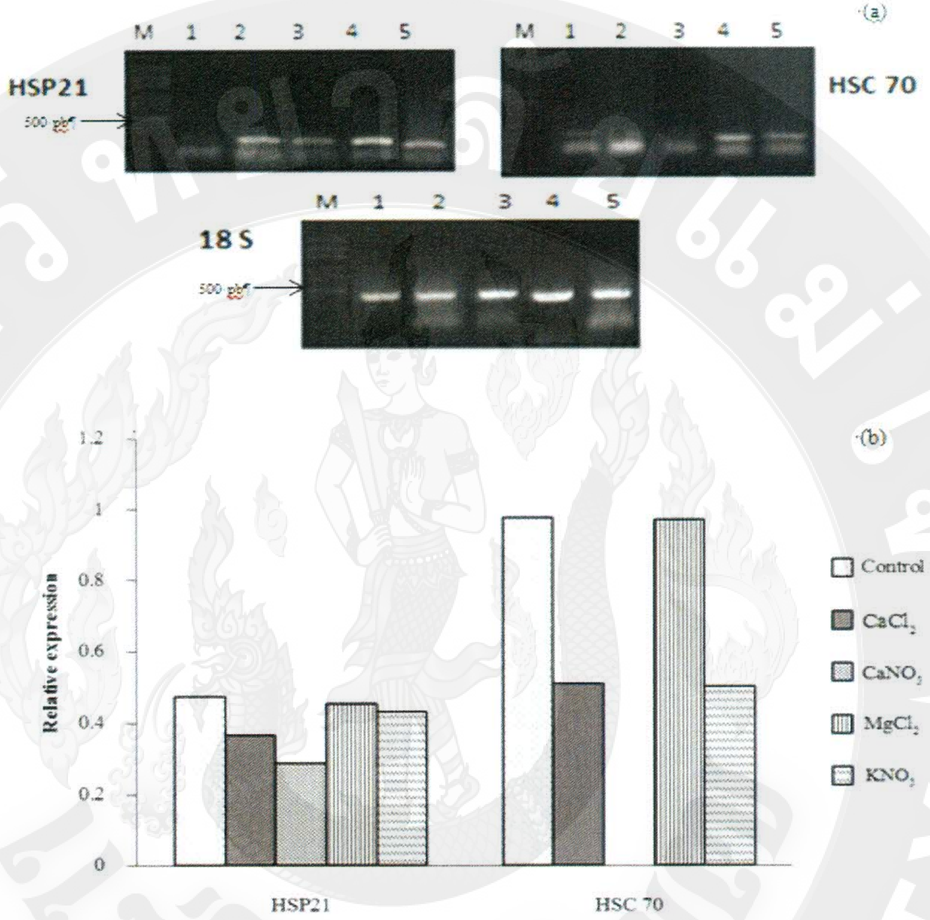
21 (ภาพที่ 24) โดยต้นกล้าที่ได้รับการพ่นสารละลายแคลเซียมไนเตรต แมกนีเซียมคลอไรด์ และโพแทสเซียมไนเตรตมีการแสดงออกของยีน HSP21 มากกว่าต้นที่ได้รับการพ่นแคลเซียมคลอไรด์ นอกจากนี้ยังพบการแสดงออกของยีน HSC 70 ในทุกตำรับหลังจากย้ายเข้าห้องร้อนนาน 6 ชั่วโมง และพบว่าในตำรับที่ได้รับการพ่นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีการแสดงออกของยีน HSC 70 น้อยกว่าตำรับอื่นๆ ดังแสดงในภาพที่ 24a และ 24b



ภาพที่ 24 (a) แสดงผลการทำ semi-quantitative RT-PCR โดย M คือ marker 1 คือตำรับถูกพ่นด้วยน้ำเปล่า (Control) 2 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย $CaCl_2$ 3 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย$CaNO_3$ และ 4 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย $MgCl_2$ และ 5 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย KNO_3 (b) แสดงระดับการแสดงออกของยีน HSP21 และ HSC เมื่อเทียบกับ 18s RNA ในต้นกล้ามะเขือเทศเมื่อได้รับการพ่นด้วยสารละลายเกลือ 4 ชนิด และย้ายปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส / 25 องศาเซลเซียส และ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

หลังจากย้ายปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง พบว่าทุกตำรับมีการแสดงออกของยีน HSP21 โดยตำรับที่ยีน HSP21 มีการแสดงออกน้อยที่สุดคือตำรับที่พ่นด้วยสารละลายแคลเซียมไนเตรต ส่วนการแสดงออกของยีน HSC 70 พบว่ามีการแสดงออกในตำรับที่ได้รับการพ่นด้วยน้ำ สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ สารละลายแมกนีเซียมคลอ

ไรด์ และสารละลายโพแทสเซียมไนเตรต ส่วนตำรับที่พ่นสารละลายแคลเซียมไนเตรตพบการแสดงออกของยีน HSC 70 น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับตำรับอื่นๆ ดังแสดงในภาพที่ 25 a และ 25b



ภาพที่ 25 (a) แสดงผลการทำ semi-quantitative RT-PCR โดย M คือ marker 1 คือ ตำรับถูกพ่นด้วยน้ำเปล่า (Control) 2 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย $CaCl_2$ 3 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย $CaNO_3$ และ 4 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย $MgCl_2$ และ 5 คือ ตำรับถูกพ่นด้วย KNO_3 (b) แสดงระดับการแสดงออกของยีน HSP21 และ HSC เมื่อเทียบกับ 18s RNA ในต้นกล้ามะเขือเทศหลังจากได้รับการพ่นด้วยสารละลายเกลือ 4 ชนิดและย้ายปลูกในสภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส/25 องศาเซลเซียส และ 39 องศาเซลเซียส /29 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

วิจารณ์ผลการทดลอง

บทบาทของแคลเซียมและวิตามินซีต่อการทำงานของปฏิกิริยาแสงในสภาพอุณหภูมิสูง

ระบบแสงที่สองจัดเป็นส่วนประกอบสำคัญของปฏิกิริยาแสง การประเมินความเสียหายหรือประสิทธิภาพของระบบแสงที่สองในสภาวะเครียดสามารถทำได้โดยวัดการเรืองแสงของคลอโรฟิลล์

MAEJO UNIVERSITY

(Baker, 2008) จากการทดลอง พบว่าการย้ายต้นกล้ามะเขือเทศเข้าปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงในช่วงระยะเวลา 2-4 วัน ทำให้ค่า ϕ_{PSII} และค่า F_v/F_m ลดลงเพียงเล็กน้อย ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าต้นพืชยังไม่ได้รับอันตรายจากความเครียดร้อนมากนักและยังอยู่ในช่วงที่พืชสามารถปรับตัวให้ทนกับสภาวะร้อนได้ (สายชล, 2552) พืชแต่ละชนิดอาจมีความทนต่อสภาพอุณหภูมิสูงแตกต่างกัน ดังเช่นงานทดลองในถั่วสายพันธุ์ Carioca Guarumbe และ Ouro Negro ที่หากได้รับอุณหภูมิสูง 38 องศาเซลเซียส ในช่วงระยะเวลา 6-10 ชั่วโมง พบว่าค่า F_v/F_m มีการลดลงเพียงเล็กน้อยและจะลดลงมากที่สุดเมื่ออยู่ในสภาวะร้อนในช่วงระยะเวลา 12-14 ชั่วโมงขึ้นไป (Rafael et al., 2004) และงานทดลองในข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ซึ่งพบว่าหลังจากย้ายต้นกล้าเข้าสู่สภาพอุณหภูมิสูง 36/30 องศาเซลเซียส นาน 1 สัปดาห์ ค่า F_v/F_m มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญหากเปรียบเทียบกับตำรับควบคุม (Sharma et al., 2015) เช่นเดียวกับงานทดลองในมะเขือเทศ ที่พบว่าค่า F_v/F_m ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ หลังจากย้ายปลูกในสภาพร้อน อุณหภูมิ 36 /28 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน (Rong et al., 2015)

เมื่อย้ายต้นกล้ามะเขือเทศเข้าห้องปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงนานเกินกว่า 6 วันขึ้นไป พบว่าค่า ϕ_{PSII} และค่า F_v/F_m ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับต้นควบคุม ซึ่งอาจเกิดจากระบบแสงที่สองเกิดความเสียหายและไม่สามารถทำงานได้เป็นปกติเมื่ออยู่ในสภาพอุณหภูมิสูง (Maxwell and Johnson, 2000) นอกจากนี้พบว่าต้นที่ได้รับการพ่นวิตามินซีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ (ภาพที่ 3) แคลเซียมคลอไรด์ และแคลเซียมไนเตรตความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ (ภาพที่ 4 13 และ 14) มีค่า ϕ_{PSII} และ F_v/F_m สูงกว่าต้นควบคุมเมื่อปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงนาน 12 วัน เป็นไปได้ว่าวิตามินซี แคลเซียมคลอไรด์ และแคลเซียมไนเตรตอาจช่วยบรรเทาผลกระทบของอุณหภูมิสูงโดยปกป้องการทำงานของปฏิกิริยาแสง (Light reaction) เช่นเดียวกับงานทดลองของ Ming et al. (2011) ซึ่งทำการทดลองพ่นแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้กับมะเขือเทศก่อนการย้ายสู่สภาวะเครียดร้อน โดยพบว่าตำรับที่ได้รับการพ่นแคลเซียมคลอไรด์ส่งผลให้ค่า ϕ_{PSII} และ F_v/F_m สูงกว่าตำรับที่ถูกพ่นด้วยน้ำ ส่วนการลดลงของค่า F_v/F_m ของต้นกล้าในตำรับที่ได้รับการพ่นวิตามินซีความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ก่อนย้ายเข้าสู่ห้องควบคุมอุณหภูมิสูงนาน 6 วัน นั้นอาจเกิดความเป็นพิษกับต้นกล้าซึ่งมีสาเหตุจากได้รับวิตามินซีความเข้มข้นสูงเกินไปจน (ภาพที่ 4)

บทบาทของแคลเซียมและวิตามินซีต่อการดูดซึมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาพอุณหภูมิสูง

ความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์หรือการสังเคราะห์แสงถือเป็นหนึ่งในตัวชี้วัดสำคัญของการทนร้อนของพืช (Wahid et al., 2007) จากผลการทดลองในภาพที่ 5 การลดลงของอัตราการสังเคราะห์แสงในช่วง 6 วันแรกของต้นควบคุมที่ได้รับน้ำเพียงอย่างเดียวนั้น ไม่น่าจะมีสาเหตุมาจากความเสียหายของระบบแสงที่สอง และการปิดของปากใบ เนื่องจากค่า F_v/F_m และค่าอัตราการนำไหลของปากใบไม่ได้มีการลดลง (ภาพที่ 4 และ 7) แต่อาจเกิดจากความไม่เสถียรของเอนไซม์รูบิสโก้ ซึ่งไม่สามารถทำงานได้เป็นปกติเมื่ออยู่ในสภาพอุณหภูมิสูง (Michael and Steven, 2004) ส่วนการลดลงของอัตราการสังเคราะห์แสงในช่วง 12 วัน ของภาพที่ 5 และ 15 อาจเป็นผลร่วมกันกันของการปิดปากใบ (ภาพที่ 7 และ 17) ระบบแสงที่สองเกิดความเสียหาย (ภาพที่ 4 และ 14) และความไม่เสถียรของเอนไซม์รูบิสโก้ ส่วนการให้วิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1

มิลลิโมลาร์ ในภาพที่ 6 และการให้แคลเซียมคลอไรด์และแคลเซียมไนเตรตความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ในภาพที่ 16 มีผลทำให้อัตราการคายระเหยของน้ำในมะเขือเทศดีขึ้น ซึ่งอาจเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้มีการระบายความร้อนออกจากใบและลดผลกระทบจากสภาวะอุณหภูมิสูงต่อประสิทธิภาพการทำงานของระบบแสงที่สอง รวมไปถึงทำให้การดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์มีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 4 5 7 14 15 และ17 ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่มีการให้แคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ แก่ต้นยาสูบก่อนการย้ายเข้าสู่สภาพอุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส ส่งผลทำให้ค่าอัตราการนำไหลของปากใบยาสูบเพิ่มสูงขึ้นกว่าตำรับควบคุม (Wei et al., 2011)

แคลเซียมและวิตามินซีต่อการรักษาเสถียรภาพของเยื่อหุ้มไขมันในเซลล์ภายใต้สภาพอุณหภูมิสูง

สภาวะอุณหภูมิสูงส่งผลให้ปริมาณ ROS ภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น ซึ่ง ROS เหล่านี้สามารถออกซิไดซ์ไขมันก่อให้เกิดความเสียหายแก่เยื่อหุ้มเซลล์และอาจทำให้เซลล์ตายได้ (Pallavi et al., 2012) หนึ่งในวิธีการประเมินปริมาณการออกซิไดซ์ไขมันทำได้โดยการวัดปริมาณ MDA ซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการ Lipid peroxidation (Janero, 1990) จากผลการทดลองในภาพที่ 8 พบว่าการให้วิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 5 และ 1 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้ปริมาณ MDA ลดลง ซึ่งเป็นไปได้ว่าวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ส่งเสริมกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น และอาจมีผลทำให้ ROS ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ลดลง เมื่ออยู่ในสภาวะเครียดร้อนทำให้ปริมาณไขมันที่ถูกออกซิไดซ์ลดลงด้วย ดังเช่นการทดลองการพ่น $CaCl_2$ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ กับ Creeping bentgrass ก่อนการย้ายปลูกในสภาวะอุณหภูมิสูง 35 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่ามีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ SOD CAT และ POD เพิ่มขึ้น (Fu and Huang, 2003) และยังพบการทดลองใช้วิตามินซีความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ กับข้าวบาร์เล่ย์ ส่งผลให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ POD CAT และ SOD เพิ่มสูงขึ้น (Agami, 2014) นอกจากนี้การให้วิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ยังช่วยส่งผลให้การรั่วไหลของไอออนจากเซลล์ลดน้อยลงในสภาวะอุณหภูมิสูง ดังแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งสอดคล้องบทบาทของแคลเซียมในการรักษาเสถียรภาพของเยื้อหุ้มเซลล์ (Cooke et al., 1986) และเสริมสร้างความแข็งแรงให้กับผนังเซลล์ของพืช (Easterwood, 2002) ส่วนต้นที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ส่งผลให้มีปริมาณ MDA สูงขึ้นในภาพที่ 8 และต้นที่ได้รับวิตามินซีความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ที่ส่งผลให้ % EL สูงขึ้นในภาพที่ 9 อาจเนื่องมาจากได้รับสารดังกล่าวในความเข้มข้นที่สูงเกินไปจนเกิดความเป็นพิษ เนื่องจากพบลักษณะอาการใบไหม้ในต้นกล้ามะเขือเทศ

บทบาทของแคลเซียมและวิตามินซีต่อปริมาณ ROS ภายในเซลล์ในสภาพอุณหภูมิสูง

สภาวะเครียดจากอุณหภูมิสูงชักนำให้เซลล์มีการผลิต ROS เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อนุมูลไฮดรอกซิล ออกมาในปริมาณที่สูงกว่าปกติ (Irina et al., 2002) ROS เหล่านี้อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อส่วนประกอบและออแกเนลล์ต่างๆ ภายในเซลล์จนนำไปสู่การตายของเซลล์ในที่สุด (Bayram et al., 2011) ในการวิจัยครั้งนี้มีการวิเคราะห์ปริมาณ O_2^- และ H_2O_2 ภายใน

เซลล์ด้วยการประเมินการติดสีหลังจากการแช่ในสารละลาย NBT และ DAB จากภาพที่ 10 และ 11 พบว่ามีพื้นที่การติดสีของสารละลาย DAB และ NBT เพิ่มสูงขึ้น เมื่ออยู่ในห้องร้อนนาน 6 และ 12 วัน จึงอาจคาดการณ์ได้ว่าปริมาณซุปเปอร์ออกไซด์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้นกว่าปกติ โดย ROS ที่เกิดขึ้นเหล่านี้อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิด Lipid peroxidation และการรั่วไหลของไอออนจากเซลล์เพิ่มมากขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 8 และ 9 (Axelord et al., 1981) ส่วนต้นที่ได้รับวิตามินซี 5 มิลลิโมลาร์ และแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ในภาพที่ 10 11 และ 12 และต้นที่ได้รับแคลเซียมไนเตรตและแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ในภาพที่ 18 และ 19 มีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และซุปเปอร์ออกไซด์เกิดขึ้นภายในเซลล์น้อยที่สุด ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองให้แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ กับ *Pennisetum typoidies*. ซึ่งพบว่าทำให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ภายในเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ภายใต้สภาวะเครียดเค็ม (Gobinathan et al., 2009)

จากการประเมินการตายของเซลล์ด้วยการย้อมสี Trypan blue พบว่าต้นที่ได้รับแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในภาพที่ 12 และต้นที่ได้รับการพ่นแมกนีเซียมคลอไรด์และโพแทสเซียมไนเตรตความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ในภาพที่ 20 มีพื้นที่การติดสีของสารละลาย Trypan blue สูงกว่าต้นควบคุม จึงเป็นไปได้ว่ามีปริมาณการตายของเซลล์สูงที่สุด ซึ่งอาจเป็นเพราะได้รับเกลือในความเข้มข้นสูงจนทำให้เกิดใบไหม้ ในส่วนของการพ่นสารละลายวิตามินซีทุกความเข้มข้น แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 และ 5 มิลลิโมลาร์ (ภาพที่ 12) แคลเซียมไนเตรตและแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ (ภาพที่ 20) พบว่าทำให้มีพื้นที่การติดสีของ Trypan blue ในใบมะเขือเทศลดลงอย่างมีนัยสำคัญ จึงอาจเป็นไปได้ว่าวิตามินซีมีส่วนในการกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ดังแสดงในภาพที่ 10 และ 11 ส่วนสารละลายแคลเซียมอาจจะมีส่วนช่วยกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในพืชให้เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณของของอนุมูลอิสระลดลงและปริมาณเซลล์ตายลดลงเช่นเดียวกัน (Fu and Huang, 2001) ดังเช่นในงานทดลองของ Wang et al. (2009) ซึ่งใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ผสมน้ำสำหรับเลี้ยงสาหร่าย ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูง หลังจากนั้นทำการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสาหร่ายในตำรับที่เลี้ยงในน้ำผสมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าตำรับที่ถูกเลี้ยงในน้ำเปล่าเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้การพ่นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ให้กับหญ้า creeping bent grass ก่อนการย้ายปลูก มีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ POD SOD และ CAT เพิ่มขึ้นมากกว่าตำรับควบคุม (Fu and Huang, 2003)

น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง

จากภาพที่ 21 พบว่าการให้สารละลายแคลเซียมแก่ต้นกล้ามะเขือเทศ ช่วยให้มีน้ำหนักสดมากว่าต้นควบคุมในห้องควบคุมอุณหภูมิสูง สอดคล้องกับผลการทดลองของ Bernardo et al. (2005) ที่แสดงให้เห็นว่าการพ่นสารละลายแคลเซียมให้ต้นถั่วทำให้ต้นมีน้ำหนักสดเพิ่มสูงกว่าต้นที่ได้รับน้ำเปล่าเพียงอย่างเดียว ในภาพที่ 22 พบว่าการให้สารละลายแคลเซียม ช่วยให้น้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นเช่นกัน ดังนั้นสารละลายแคลเซียมทำให้การเจริญเติบโตในภาพรวมของพืชเพิ่มมากขึ้นใน

สภาวะอุณหภูมิสูงซึ่งอาจเป็นผลมาจากการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของต้นกล้ามะเขือเทศที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อได้รับสารละลายเกลือแคลเซียม ดังแสดงในภาพที่ 15

การพ่นสารละลายแคลเซียมที่มีผลต่อการแสดงออกของยีน HSP

สภาวะอุณหภูมิจะส่งผลให้ปริมาณ ROS ภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้นโดย ROS มีส่วนสำคัญในการส่งสัญญาณกระตุ้นให้ยีนในกลุ่ม HSP มีการแสดงออกมากขึ้น (Anna et al., 2008) จากภาพที่ 24 (a) (b) และภาพที่ 25 (a) (b) พบว่าตำรับที่ได้รับการพ่นสารละลายเกลือทุกชนิด มีการแสดงออกของยีน HSP 21 และ HSC 70 น้อยกว่าตัวควบคุมที่ 6 ชั่วโมงหลังการย้ายปลูกในสภาพอุณหภูมิสูง และเมื่อย้ายเข้าปลูกในสภาพอุณหภูมิสูงเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าตำรับที่พ่นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ แมกนีเซียมคลอไรด์ และโพแทสเซียมไนเตรต มีการแสดงออกของยีน HSC 70 น้อยกว่าชุดควบคุม เป็นไปได้ว่าการให้สารละลายเกลือทั้ง 4 ชนิดอาจทำให้ปริมาณ ROS ภายในเซลล์ลดลงผ่านการกระตุ้นกิจกรรมของเอ็นไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ดังแสดงในภาพที่ 18 และ 19 จึงทำให้กระบวนการส่งสัญญาณเพื่อกระตุ้นการแสดงออกของยีน HSP ทำงานน้อยลงกว่าต้นควบคุมซึ่งมีปริมาณ ROS สูงกว่า

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่า อุณหภูมิสูงส่งผลให้ต้นกล้ามะเขือเทศมีประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง และปริมาณ ROS ภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งการพ่นวิตามินซีและเกลือแคลเซียมคลอไรด์ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสามารถทำให้ค่า ϕ_{PSII} และค่า F_v/F_m อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง อัตราการคายระเหยของน้ำ อัตราการนำไหลของปากใบ น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งเพิ่มสูงขึ้น และทำให้ปริมาณ MDA ร้อยละการรั่วไหลของไอออน ปริมาณซุปเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และการตายของเซลล์ในต้นกล้ามะเขือเทศลดลง ซึ่งระดับความเข้มข้นของวิตามินซีและแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมในการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อนคือ 5 และ 1 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าแคลเซียมไอออนมีความจำเพาะต่อการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศทนร้อน เห็นได้จากการพ่นสารละลายเกลือที่มีแคลเซียมไอออนเป็นองค์ประกอบให้กับต้นกล้ามะเขือเทศคือ แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ และแคลเซียมไนเตรต ($CaNO_3$) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ซึ่งมีผลทำให้ดัชนีต่างๆ ที่ใช้ชี้วัดการทนร้อนของพืชมีค่าสูงกว่าตำรับที่ถูกพ่นด้วยสารละลายเกลือที่ไม่มีแคลเซียมไอออนเป็นองค์ประกอบ แต่ทุกตำรับไม่มีผลต่อการแสดงออกของยีน HSP

ดังนั้นการพ่นวิตามินซี แคลเซียมคลอไรด์หรือสารละลายเกลือที่มีแคลเซียมไอออนเป็นองค์ประกอบให้กับพืชเป็นหนึ่งในวิธีที่น่าจะสามารถประยุกต์ใช้เพื่อชักนำให้ต้นกล้าพืช ทนทานต่อสภาวะอุณหภูมิสูงทั้งในสภาพโรงเรือนและสภาพแปลงปลูกได้ อย่างไรก็ตามควรต้องมีการทดลองหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิดก่อนการประยุกต์ใช้

บรรณานุกรม

เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์,** 1(1), 59-70.

ปิยศิริ สุนทรนนท์. 2551. **สารต้านอนุมูลอิสระในดอกดาหลา.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พัชรี แสนจันทร์. 2552. ภาวะโลกร้อนกับงานวิจัยในนาข้าว. **Khon Kaen Agricultural Journal,** 39(1), 1-4.

พูนพิภพ เกษมทรัพย์. 2553. ภาวะโลกร้อนและผลกระทบ. **วารสารวิจัยระบบสาธารณสุข,** 4(2), 172-187.

รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย. 2555. **เรื่องราวของอนุมูลอิสระ: อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ.** เชียงใหม่: นวัตกรรมสุขภาพสำนักพิมพ์.

วรพล เองวานิช. 2555. **ภาวะเครียดออกซิเดชัน: อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ.** เชียงใหม่: นวัตกรรมสุขภาพสำนักพิมพ์.

สายชล เกตุษา. 2552. ภาวะโลกร้อน: ผลกระทบต่อพืช. **วารสารวิจัยระบบสาธารณสุข,** 3(2), 203-211.

สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร. 2554. **สถิติการค้าสินค้าการเกษตรไทยกับต่างประเทศ.** กรุงเทพฯ: ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. 2544. **การปฏิวัติยีนกับการปรับปรุงพันธุ์พืช.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

_______. 2553. **การปรับปรุงพันธุ์พืช.** พิมพ์ครั้งที่ 3. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Abbas, M. L. & James, H. L. 1995. Effect of high temperature on plant growth and carbohydrate metabolism in potato. **Plant Physiology,** 109, 637-643.

Abdul-baki, A. A. & Stommel, J. R. 1995. Pollen viability and fruit-set of tomato genotypes under optimum-temperature and high-temperature regimes. **Horticultural Science,** 30(1), 115-117.

Abed, S. & Peter, M. N. 2001. Exogenus ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. **Journal of Experimental Botany,** 52, 2207-2211.

Agami, R. A. 2014. Applications of ascorbic acid or proline increase resistance to salt stress in barley seedlings. **Biology Plantarum,** 58(2), 341-347.

Ahammed, G. J., Wang, M. M., Zhou, Y. H., Xia, X. J., Mao, W. H., Shi, K. & Yu, J. Q. 2012. The growth photosynthesis and antioxidant defense responses of five vegetable crops to phenanthrene stress. **Ecotoxicology Environmental Safety,** 80, 132–139.

Aien, A., Khetarpa, S., & Pal, M. 2011. Photosynthetic characteristics of potato cultivars grown under high temperature. American-Eurasian. **Journal of Agricultural & Environmental Sciences,** 11, 633-639.

Ali, A. A., & Alqurainy, F. 2006. **Activities of antioxidants in plants under environmental stress.** [Online]. Available http://faculty.ksu.edu.sa/AkramAli/Documents/Research%20papers/akk28.pdf (15 March 2015).

Al-Hakimi, A. M. A. & Hamada, A. M. 2001. Counteraction of salinity stress on wheat plants by grain soaking in ascorbic acid, thiamin or sodium salicylate. **Biology Plantarum,** 44(2), 253-261.

Al-Busaidi, A., Ahmed, M. & Chikara, J. 2012. The impact of heat and water stress conditions on the growth of the biofuel plant *Jatropha curcas*. **Inter Journal of Environmental,** 69, 273-388.

Ameed, K., Muhummad, S., Aqee,l A., Habib, U. A. & Muhammad, A. 2006. Interactive effect of foliarly applied ascorbic acid salt stress on wheat (*Triticum aestivum* L.) at the seedling stage. **Pakistan Journal of Botany,** 35(8), 1407-1414.

Amuthavalli, P., Anbu, D. & Sivasankaramoorthy, S. 2012. Effect of calcium chloride on growth and biochemical constituents of cotton (*Gossypium hirsutum L.*) under salt stress. **Journal of Research in Botany,** 2(3), 9-12.

Andres, F. L. C. & Perla, A. G. 2004. Comparison of color indexes for tomato ripening. **Horticultural,** 3(22), 534-537.

Angadi, S. V., Cutforth, H. W., Miller, P. R., Mconkey, B. G., Entz, M. H., Brandt, S. A., & Volkmar, K. M. 1999. Response of three Brassica species to high temperature stress during reproductive growth. **Canadian Journal of Plant Science,** 1(47), 105-106.

Anna, M. T., Maria, G. E. & Lello, Z. 2008. Proteomics applied on plant abiotic stresses: Role of heat shock proteins (HSP). **Journal of proteomics,** 71(4), 391-411.

Arora, A., Sairam, R. K. & Srivastava, G. C. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. **Current Science,** 82, 110.

Aril, D., Seyed, A. M., Modarres, S. & Kamal, S. 2010. Effect of ascorbic acid foliar application on yield, yield component and several morphological traits of grain corn under water deficit stress conditions. **Notulae Scientia Biologicae,** 2(3), 45-50.

Ashraf, M. & Hafeez, M. 2004. Thermotolerance of pearl millet and maize at early growth stages: growth and nutrient relations. **Biology Plantarum,** 48, 81-86.

Ashraf, M., Saeed, M. M. & Qureshi, M. J. 1994. Tolerance to high temperature in cotton (*gossypium hirsutum* L.) at initial growth stages. **Environmental and Experimental Botany Journal,** 3(34), 275–283.

Atherton, J. & Rudich, J. 1986. **The tomato crop: A scientific basis for improvement.** Netherlands: Springer.

Atilla, L. T., Cengiz, K., Hakan, A. & Muhammad, A. 2013. Mitigation effects of non-enzymatic antioxidants in maize (*Zea mays* L.) plants under salinity stress. **Australian Journal of Crop science,** 7(8), 1181-1188.

Axelrod, B., Cheesbrough, T. M. & Laakso, S. 1981. Lipoxygenase from soybeans. **Methods in Enzymology Journal,** 71, 441–451.

Baker, N. R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology,** 59, 89-114

Bayram, S., Süleyman, S. & Elif, Y. 2011. Drought and oxidative stress. **African Journal of Biotech,** 10(54), 11102-11109.

Beny, A., Mary, P., Mason, P. & Leah, K. 2001. The effect of high temperature and high atmospheric CO_2 on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annuum*) pollen in relation to its germination. **Physiologia Plantarum,** 112, 505-512.

Bernardo, M. A., Hamlyn, G. J., Cengiz, K., Raul, L. A., Jose, L. G. H., Enrique, T. D., Narciso, Y. A., Vila, S. & Edgar, R. P. 2005. Effects of foliar application of calcium nitrate on growth and physiological attributes of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) grown under salt stress. **Environmental and Experimental Botany,** 58(1), 188–196.

BeYoung, H. Y., Harvey, J. L. & Greg, C. B. 1997. Priming with salt solutions improves germination of pansy seed at high temperatures. **Horticultural Science,** 32(2), 248-250.

Bouzid, N. & Youcef, D. 2009. Effects of calcium chloride on growth, membrane permeability and root hydraulic conductivity in two atriplex species grown at high (Sodium Chloride) salinity. **Journal of Plant Nutrient,** 32(11), 1818–1830.

Cooke, A., Cookson, A. & Earnshaw, M. J. 1986. The mechanism of action on calcium in the inhibition on high temperature induced leakage of betacyanin from beet root discs. **New Phytologist,** 102, 491-497.

Daymi, C. P. R., Angeles, M. M., José, M. D. A., Arturo, T. & Juan, J. A. 2004. High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. **Plant Physiology and Biochemistry,** 62(3), 281–289.

Downes, R. W. & Tonnet, M. L. 1985. Effect of environmental conditions on growth and rubber production of guayule (*Parthenium argentatum*). **Australian Journal of Agricultural Research,** 36(2), 285 – 294.

Djanaguiraman, M., Prasad, P. V. V., Boyle, D. L & Schapaugh, W. T. 2013. Soybean pollen anatomy, viability and pod set under high temperature stress. **Journal of Agronomy and Crop Science,** 199(3), 171-177.

Du, Z. & Branlage, W. J. 1992. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** 40, 1566–1570.

Eamus, D., Taylor, D. T., Macinniscm, O., Shanahan, S. & De, S. L. 2008. Comparing model predictions and experimental data for the response of stomatal conductance and guard cell turgor to manipulations of circular conductance, leaf-to-air vapour pressure difference and temperature: feedback mechanisms are able to account for all observations. **Plant Cell and Environment,** 31, 269-277.

Easterwood. 2002. Calcium's role in plant nutrition. **Journal of Fluid Mechanics,** 36, 16-19.

El-Quesni, F. E. M., Abd, E. A., Nahed, G. & Magda, M. K. 2009. Some studies on the effect of ascorbic acid and tocopherol on the growth and some chemical composition of *Hibiscus rosa sineses* L. at Nubaria. **Ozean Journal of Applied Science,** 2(2), 159-167.

Elena, M., Natalya, K., Carla P., Mariolina, G., Henry, T. N. & Nelson, M. 2002. Molecular genetics of heat tolerance and heat shock proteins in cereals. Plant **Molecular Biology,** 48(5), 667–681.

Emam, M. M. & Helal, N. M. 2008. Vitamins minimize the salt-induced oxidative stress hazards. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences,** 2(4), 1110-1119.

Erik, P. H., Travis, E. H., Michael, E. L. & Stanley, D. S. 2000. Effects of extreme high temperature, drought and elevated CO_2 on photosynthesis of the Mojave Desert evergreen shrub, Larrea tridentate. **Plant Ecology,** 148(2), 183-193.

Essemine, J., Ammar, S. & Bouzid, S. 2010. Impact of heat stress on germination and growth in higher plants: Physiological, biochemical and molecular repercussions and mechanisms of defence. **Biological Science,** 10, 565-572.

Etan, P., Mary, M. P. & Mason, P. D. 2002. The effect of heat stress on tomato pollen characteristics is associated with changes in carbohydrate concentration in the developing anthers. **Botany,** 90, 631-636

Fercha, A., Hocine, G. & Mebarek, B. 2011. Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. **Journal of Physiology and Biochemistry,** 7(1), 27-37.

Frank, G., Pressman, E., Ophir, R., Althan, L., Shaked, R., Freedman, M., Shen, S. & Firon, N. 2009. Transcriptional profiling of maturing tomato (*Solanum lycopersicum* L.) microspores reveals the involvement of heat shock proteins, ROS scavengers, hormones, and sugars in the heat stress response. **Journal of Experimental Botany,** 60(13), 3891-908.

Fu, J. & Huang, B. 2001. Involvement of antioxidant and lipid in peroxidation the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. **Environmental and Experimental Botany,** 45, 105-114.

_______. 2003. Effects of foliar application of nutrients on heat tolerance of creeping bent grass. **Journal of Plant Nutrition,** 26(1), 81-96.

Gholamreza, D., Leyla, R. & Ghader, H. 2011. Exogenous ascorbate improves antioxidant defense system and induces salinity tolerance in soybean seedlings. **Acta Biologica Szegediensis International,** 55(2), 261-264.

Gibson, L. R. & Paulsen, G. M. 1999. Yield components of wheat grown under high temperature stress during reproductive growth. **Crop Science,** 39(6), 1841-1846.

Gobinathan, P. B., Sankar, P. V. M. & Panneerselvam, R. 2009. Interactive Effects of Calcium Chloride on Salinity-Induced Oxidative Stress in Pennisetum typoidies. **International Journal of Botany and Research,** 2(3), 143-148.

Grant, R. C., Andrfe, L. & Emanuel, E. 1986. Effects of NaCl and $CaCl_2$ onion activities in complex nutrient solutions and root growth of cotton. **Plant Physiology,** 81, 792-797.

Greer, D. H. & Weston, C. 2010. Heat stress affects flowering, berry growth, sugar accumulation and photosynthesis of *Vitis vinifera* cv. Semillon grapevines grown in a controlled environment. **Functional Plant Biology,** 37, 206-214.

Greer, D. H & Weedon, M. M. 2012. Modelling photosynthetic responses to temperature of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Semillon) leaves on vines grown in a hot climate. **Plant Cell and Environment,** 35, 1050-1064.

Gross, Y. & Kigel, J. 1994. Differential sensitivity to high temperature of stages in the reproductive development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Field Crops Research,** 36, 201-212.

Hadi, M. R. & Karimi, N. 2012. The role of calcium in plants salt tolerance. **Journal of Plant Nutrition,** 35, 2037–2054.

Haldimann, P. & Feller, U. 2004. Inhibition of photosynthesis by high temperature in oak (*Quercus pubescens* L.) leaves grown under natural conditions closely correlates with a reversible heat-dependent reduction of the activation state of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. **Plant Cell and Environment.** 27, 1169-1183.

Hasegawa, P. H., Bressan, R. A., Zhu, J. K. & Bohnert, H. J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,** 51, 463–499.

Hedhly, A., Hormaza, J. I. & Herrero, M. 2005. The effect of temperature on pollen germination, pollen tube growth and stigmatic receptivity in peach. **Plant Biology,** 7, 476–483.

Hoagland, D. R. & Arnon, D. I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. **Circular California Agricultural Experiment Station,** 374(2), 1-34.

Hollister, R. D. & Webber, P. J. 2000. Biotic validation of small open top chamber in tundra ecosystem. **Global Change Biology,** 6, 835-842.

Huang, X. S., Luo, T., Fu, X. Z., Fan, Q. J. & Liu, J. H. 2011. Cloning and molecular characterization of a mitogen-activated protein kinase gene from *Poncirus trifoliata* whose ectopic expression confers dehydration/drought tolerance in transgenic tobacco. **Journal of Experimental Botany,** 62, 5191–5206.

Irina, I. P., Roman, A. V. & Schof, F. 2002. Heat stress and heat shock transcription factor dependent expression and activity of ascorbate peroxidase in Arabidopsis. **Plant Physiology,** 129, 833–853.

Jakub, S., Ales, K. & Irena, V. 2014. Construction of multiplex quantitative PCR for detection of streptococcal mastitis. **The Mendel journal,** 55, 512-515.

Janero, D. R. 1990. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. **Free Radical Biology and Medicine,** 9, 515-540.

Jasper, P. & Kangasjarvi, J. 2010. Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. **Physiologia Plantarum,** 138(4), 405-413.

Jiang, Y. & Huang, B. 2002. Protein alterations in tall fescue in response to drought stress and abscisic acid. **Crop Science,** 42, 202-207.

Johkan, M., Oda, M., Maruo, T. & Shinohara, Y. 2011. Crop production and global warming In *Casalegno S.* global warming impacts case studies on the economy. **Human health and on urban and natural environment,** 18(6), 139-152.

Katherine, A. L., Raquel, T., Rodney, S. H., Melinda, B., Martha, M. V., Berangère, J., Boris, I. C., Pedro, M., Craig, L. N. & Argelia, L. 2013. Elevating vitamin C content via overexpression of myo -inositol oxygenase and L -gulono-1,4-lactone oxidase in Arabidopsis leads to enhanced biomass and tolerance to abiotic stresses. **In Vitro Cellular and Developmental Biology,** 49, 643–655.

Kaya, C., Kirnak, H., Higgs, D. & Saltali, K. 2002. Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high (NaCl) salinity. **Scientia Horticulturae,** 93(1), 65–74.

Koyro, H. W. 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). **Environmental and Experimental Botany,** 56(2), 136–146.

Kozai, N., Beppu, K., Mochioka, R., Boonprakob, U., Subhadrabandhu, S. & Kataoka, I. 2004. Adverse effects of high temperature on the development of reproductive organs in Hakuho' peach trees. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology,** 79, 533-537.

Krishnan, P., Ramakrishnan, B., Raja, R. K. & Reddy, V. R. 2011. High Temperature Effects on Rice Growth, Yield, and Grain Quality. **Advances in Agronomy,** 111, 87-206.

Langjun, J. L. I., Yamin, F. A. N., Sheng, X. U. & Zhang, Z. 2006. High temperature effects on photosynthesis, PSII functionality and antioxidant activity of two *Festuca arundinacea* cultivars with different heat susceptibility. **Botanical Journal of the Linnean Society,** 47, 61-69.

Ledesma, N. A., Nakata, M. & Sugiyama, N. 2008. Effect of high temperature stress on the reproductive growth of strawberry cvs. 'Nyoho' and 'Toyonoka'. **Scientia Horticulturae,** 116, 186-193.

Levent, T. A., Cengiz, K., Muhammad, A., Hakan, A., Ibrahim, Y. & Bulent, Y. 2007. The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient

uptake of tomato plants grown under salt stress. **Environmental and Experimental Botany,** 59, 173–178.

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

Lila, A. & Ali, A. E. 2006. The effects of ascorbic acid on salt induced alfalfa (*Medicago sativa* L.) in vitro culture. **Biochemical,** 18(2), 63 – 69.

Lopez, M. V. & Satti, S. M. E. 1996. Calcium and potassium enhanced growth and yield of tomato under sodium chloride stress. **Plant Science,** 114, 19-27.

Martí, C., Orzáez, D., Ellul, P., Moreno, V., Carbonell, J. & Granell, A. 2007. Silencing of DELLA induces facultative parthenocarpy in tomato fruits. **The Plant Journal,** 52(5), 865-76.

Matheron, M. E. & Matejka, J. C. 1992. Effect of temperature on sporulation and growth of *Phytophthora Citrophthora* and *P. pararitica* and development of foot and root rot on Citrus. **American Phytopathological Society,** 76, 1103-1109.

Maxwell, K. & Johnson, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of Experimental Botany,** 51, 659-668.

Marcar, N. E. 1986. Effect of calcium on the salinity tolerance of Wimmera ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud. cv. Wimmera) during germination. **Plant and Soil,** 93(1), 129-132.

Mckee, J. & Richards, A. J. 1998. The effect of temperature on reproduction in five *Primula species*. **Annals of Botany,** 82, 359-374.

Michael, E. S. & Steven, J. C. B. 2004. Inhibition of photosynthesis by heat stress: the activation state of Rubisco as a limiting factor in photosynthesis. **Physiologia Plantarum,** 120(2), 179-186.

Ming-fang, Q., Yu-feng, L., Long-fa, Z., Tian-lai, L., Yong-huai, F. Z& Ke-min, Z. 2011. Regulation of calcium on photosynthesis of tomato leaves under sub-high temperature stress. **Scientia Agricultura Sinica,** 44(3), 531-537.

Mirza, H., Kamrun, N. & Masayuki, F. 2013. Abiotic Stress: Plant Responses and Applications in Agriculture. **Agricultural and Biological Sciences,** 1, 169-205.

Mittler, G. & Suzuki, N. 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. **Plant Cell & Environment,** 33, 453–467.

Mohamed, S. 2008. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.) plants. **African Journal of Plant Science,** 2, 118-123.

Nirupama, M., Friedrich, M. & Helmuth, M. 2000. Reactive oxygen species: response of algal cells. **Journal of Plant Physiology,** 157, 183-193.

Pallavi, S., Ambuj, B. J., Rama, S. D. & Mohammad, P. 2012. Reactive Oxygen Species: oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany,** 31, 2895–2907.

Paul, W. T. & Marsha, B. 2015. Temperature effects on the onset of sporulation by *Phytophthora ramorum.* on *Rhododendron* 'Cunningham's White'. **Journal of Phytopathology,** 163(11-12), 908-914.

Prasad, P. V. V. S. A. & Ristic, Z. 2008. Impacts of drought and or heat stress on physiological, developmental, growth, and yield processes of crop plants. In Ahuja, L. H., Saseendran, S. A. (eds). Response of crops to limited water: Understanding and modeling water stress effects on plant growth processes. **Advances in Agricultural Systems Modeling,** 1, 301-355.

Prasad, P. V. V., Boote, K. J. & Allen, J. R. L. H. 2006. Adverse high temperature effects on pollen viability, seed-set, seed yield and harvest index of grain-sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench are more severe at elevated carbon dioxide due to higher tissue temperatures. **Agricultural and Forest Meteorology,** 139, 237-251.

Prasad, P. V. V., Isipati, S. R., Mom, C. I. & Ristic, Z. 2011. Independent and combined effects of high temperature and drought stress during grain filling on plant yield and chloroplast EF-Tu Expression in spring wheat. **Journal of Agronomy and Crop Science,** 197, 430-441.

Rafael, V. R., Mauro, G., Gustavo, M., Eduardo, C. M., Ricardo, F. O., Lui,z R. A. & Carlos, P. 2004. Environmental effects on photosynthetic capacity of bean genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** 39(7), 615-623.

Rahman, M. M. 2004. **Response of wheat genotypes to late seedling heat stress.** Bangladesh: Bangabandhu Sheikh Mujibur Rahman Agricultural University.

Ramel, F., Sulmon, C., Bogard, M., Couée, I. & Gouesbet, G. 2009. Differential patterns of reactive oxygen species and antioxidative mechanisms during atrazine injury and sucrose-induced tolerance in Arabidopsis thaliana plantlets. **BMC Plant Biology Journal,** 9(28), 1471-2229.

Rong, Z., Xiaqing, Y., Katrine, H., Kjær, E. R., Carl-O, O. & Zhen, W. 2015. Screening and validation of tomato genotypes under heat stress using Fv/Fm to reveal

the physiological mechanism of heat tolerance. **Environmental and Experimental Botany,** 118, 1–11.

Saitoh, H. 2008. **Ecological and physiology of vegetable.** Tokyo; Japan: Nousangyoson Bunka Kyoukai.

Saini, H. S., Sedgley, M. & Aspinall, D. 1983. Effect of Heat Stress During Floral Development on Pollen Tube Growth and Ovary Anatomy in Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Australian Journal of Plant Physiology,** 10(2), 137 – 144.

Samina, M. & Muhammad, A. 2012. Exogenous application of ascorbic acid stimulates growth and photosynthesis of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought. **Journal of Soil Science and Environmental Management,** 31(1), 72-77.

Sato, S., Peet, M. M. & Thomas, J. F. 2000. Physiological factors limit fruit set of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under chronic, mild heat stress. **Plant Cell and Environment,** 23, 719-726.

Savitha, M., Murthy, V., Devaraj, R., Anitha, P. & Tejavathi, D. H. 2012. Studies on the activities of antioxidant enzymes under induced drought stress in in vivo and in vitro plants of Macrotyloma uniflorum (Lam.) Verdc. **Journal of Science and Technology,** 4(2), 34–37.

Schonhof, I., Kläring, H. P. A., Clauben, W. & Schreiner, M. 2007. Effect of temperature increase under low radiation conditions on phytochemicals and ascorbic acid in greenhouse grown broccoli. **Agri. Agriculture, Ecosystems and Environment,** 199(1), 103–111.

Schuster, W. S. & Monson, R. K. 1990. An examination of the advantages of C3-C4 intermediate photosynthesis in warm environments. **Plant Cell and Environment,** 13, 903-912.

Scott, J. C. & Gordon, T. R. 2010. Effect of temperature on severity of fusarium wilt of lettuce caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lactucae.* **American Psychopathological,** 94(1), 13-17.

Shakeel, A., Xiao-yu, X., Long-chang, W., Muhammad, F. S., Chen, M. & Wang, L. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. **African Journal of Agricultural Research,** 6(9), 2026-2032.

Sharma, D. K., Andersen, S. B., Ottosen, C. O. & Rosenqvist, E. 2015. Wheat cultivars selected for high Fv /Fm under heat stress maintain high photosynthesis, total chlorophyll, stomatal conductance, transpiration and dry matter. **Physiologia Plantarum,** 153(2), 284-98.

Sies, H., Stahl, W. & Sundquist, A. 1992. Antioxidant functions of vitamins, vitamin E and C, beta-carotene and other carotenoids. **Annals of the New York Academy of Sciences,** 368, 7-19.

Smitha, R. B., Thomas, B., Mohankumar, C. & Sailas, B. 2009. Oxidative stress enzymes in Ficus religiosa L. Biochemical histochemical and anatomical evidences. **Journal of Photochemistry and Photobiology Biology,** 95, 17–25.

Steven, J. C. & Michael, E. S. 2000. Rubisco actives constrains the photosynthetic potential of leaves at high temperature and CO_2. **Proceedings of the National Academy of Sciences Journal,** 97(24), 13430–13435.

Tan, W., Meng, Q. W., Brestic, M., Olsovska, K. & Yang, X. 2011. Photosynthesis is improved by exogenous calcium in heat-stressed tobacco plants. **Journal of Plant Physiology,** 168, 2063-2071.

Valacchi, G., Pagnin, E., Corbacho, A. M., Olano, E., Davis, P. A., Packer, L. & Cross, C. E. 2004. In vivo ozone exposure induces antioxidant stress-related responses in murine lung and skin. **Free Radical Biology and Medicine,** 36, 673-681.

Wahid, A. 2007. Physiological implications of metabolites biosynthesis in net assimilation and heat stress tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum*) sprouts. **Journal of Plant Research,** 120, 219-228.

Wang, Y., Yu, Q., Tang, X. & Wang, L. 2009. Calcium pretreatment increases thermotolerance of *Laminaria japonica* sporophytes. **Progress in Natural Science,** 19(4), 435-422.

Wang, H. & Jin, J. 2007. Effects of zinc deficiency and drought on plant growth and metabolism of Reactive Oxygen Species in maize (*Zea mays* L.). **Agricultural Sciences in China,** 6, 988-995.

Warren, R. C. 1971. The effect of pollen on the fungal leaf microflora of *Beta vulgaris* L. and on infection of leaves by *Phoma betae*. **Netherlands Journal of Plant Pathology,** 78(3), 89-98.

Wei, T., Qing, W. M., Marian, B., Katarina, O. & Xinghong, Y. 2011. Photosynthesis is improved by exogenous calcium in heat-stressed tobacco Plants. **Journal of Plant Physiology,** 168, 2063– 2071.

Yaacov, G. & Jaime, K. 1993. Differential sensitivity to high temperature of stages in the reproductive development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Field Crops Research,** 36(3), 201–212.

Yin, H., Chen, Q. M. & Yi, M. F. 2008. Effects of short-term heat stress on oxidative damage and responses of antioxidant system in *Lilium longiflorum*. **Plant Growth Regulation,** 54, 45-54.

Yiwei, J. & Bingru, H. 2000. Effect of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heat tolerance in two cool season grasses. **Journal of Experimental Botany,** 355(52), 341-349.

Zhudong, L., Pei, Y. G., Ku, J. W. & Dian, M. L. 2004. Effects of parental exposure to high temperature on offspring performance in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hubner) (*Lepidoptera: Noctuidae*): adaptive significance of the summer diapause. **Journal of Entomology and Zoology,** 39(3), 373-379.

Zróbek-Sokolnik, A. 2012. Temperature stress and responses of plants. pp. 113-134. In Ahmad, A. & Prasad, M. N. V. (ed.). **Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the area of climate change.** New York: Springer.

Zulaikha, R. I. 2013. Effect of foliar spray of ascorbic acid, Zn, seaweed extracts (Sea) force and bio fertilizers (EM-1) on vegetative growth and root growth of olive (*Olea Europaea* L.) transplants cv. Hoj Blanca. **International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology,** 17(2), 79-89.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาววนาลี พิงคะสัน
เกิดเมื่อ	30 เมษายน 2533
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2545-2550 มัธยมศึกษา โรงเรียนส่วนบุญโญปถัมภ์ จังหวัดลำพูน พ.ศ. 2551-2554 ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ พ.ศ. 2555-2559 ปริญญาโท มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2558-2559 ตำแหน่ง Pollen Production และ Seed Production research ห้างหุ้นส่วนโฮมซีดส์ จำกัด เชียงใหม่