

ผลของการจัดการน้ำและปุ๋ยไนโตรเจนต่อปริมาณโพรลีนในใบ ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของข้าวหอมพื้นเมืองไทย

Effects of Water and Nitrogen Fertilizer Management on Leaf Proline Content in Different Growth Stages of Thai Fragrant Rice Landraces

ชุตินา วิริยา¹ เพ็ญภา จักรสมศักดิ์² ชนกานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย^{1,3}
ศันสนีย์ จำจด^{1,3} และ ต่อนภา ผุสดี^{1,3,4*}

Chutima Wiriyā¹, Pennapa Jaksomsak², Chanakan Thebault Prom-u-thai^{1,3},
Sansanee Jamjod^{1,3} and Tonapha Pusadee^{1,2,4,*}

¹ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

¹Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²สาขาวิชาเกษตรเคมี คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ 50210

²Program in Agricultural Chemistry, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50210, Thailand

³ศูนย์วิจัยข้าวล้านนา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

³Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

⁴ศูนย์วิจัยเกษตรนวัตกรรม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

⁴Innovative Agriculture Research Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200 Thailand

*Corresponding author: Email: tonapha.p@cmu.ac.th

(Received: 22 March 2022; Accepted: 16 September 2022)

Abstract: Proline is a precursor used in the synthesis of 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) accumulates in the grains of fragrant rice. Proline accumulation has been reported after exposure to stress conditions during cultivation such as drought, high temperatures, low temperatures, or nutrient deficiencies. Therefore, this research aimed to study the effect of water (unsaturated and waterlogged) and nitrogen management at the rate of 60 (N60) and 150 (N150) kg/ha in the fragrant rice landrace, Buer Ner Moo 4 (BNM4) and the popular rice varieties Khao Dawk Mali 105 (KDML105) and Suphan Buri 1 (SPR1). The experiment was designed in a factorial in completely randomized design with 3 replications. The proline accumulation in leaves of rice was evaluated at the tillering, booting, and flowering stages. It was found that the proline content of the three rice varieties responded differently to water and nitrogen fertilizer management during tillering and flowering stage. In the booting stage, the proline content of all varieties responded to water and nitrogen fertilizer management in the same direction. Under unsaturated condition, leaf proline content increased when applied with N150 which was 37 - 46 % higher than N60. Under waterlogged condition, applying with N60 greatly increased leaf proline content by 52 - 66 % compared with N150. Comparing among the growth stage, it was found that leaves proline content in the booting stage was the highest from the other. The data obtained from this study can be utilized in appropriate water and nitrogen fertilizer management for each variety. It is assumed that proline accumulation in rice leaves is related to aroma (2AP) in fragrant rice. Further

studies may be needed on the relationship between 2AP and leaf proline content, and in-depth molecular studies should be conducted to determine the gene expression that regulate proline content related to aroma (2AP) in fragrant rice.

Keywords: Proline, fragrant rice, water management, nitrogen management

บทคัดย่อ: โพรลีน (proline) เป็นสารตั้งต้นชนิดหนึ่งในกระบวนการสังเคราะห์ 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ในเมล็ด ทำให้ข้าวมีกลิ่นหอม การสะสมโพรลีนเกิดขึ้นหลังจากได้รับสภาวะเครียดจากสภาพแวดล้อม เช่น ภัยแล้ง อุณหภูมิสูง อุณหภูมิต่ำ หรือ การขาดธาตุอาหาร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการจัดการน้ำ (สภาพน้ำขังและสภาพไม่ขังน้ำ) และไนโตรเจนที่อัตรา 60 (N60) และ 150 (N150) กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ในข้าวหอมพันธุ์พื้นเมือง คือ บิณเณม 4 (BNM4) และพันธุ์ข้าวที่นิยมปลูกทั่วไป ได้แก่ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และสุพรรณบุรี 1 วางแผนการทดลองแบบ factorial in completely randomized design ปลูกในกระถาง ภายใต้สภาพโรงเรือน จำนวน 3 ซ้ำ ประเมินการสะสมโพรลีนในใบข้าวที่อยู่ในระยะแตกกอ ตั้งท้อง และออกดอก จากการศึกษาพบว่าปริมาณโพรลีนในพันธุ์ข้าวทั้ง 3 พันธุ์ มีการตอบสนองต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยไนโตรเจนแตกต่างกันในระยะแตกกอ และออกดอก ส่วนในระยะตั้งท้องพบว่าปริมาณโพรลีนของข้าวทั้งสามพันธุ์มีการตอบสนองต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยไนโตรเจนในทิศทางเดียวกัน เมื่อปลูกในสภาพไม่ขังน้ำร่วมกับไนโตรเจนที่อัตรา N150 ส่งผลให้มีปริมาณโพรลีนในใบเพิ่มมากกว่าที่ไนโตรเจนอัตรา N60 อยู่ในช่วง 37 - 46 เปอร์เซ็นต์ แต่ในทางกลับกันเมื่อปลูกในสภาพน้ำขังร่วมกับการให้ไนโตรเจนที่ N60 ทำให้ปริมาณโพรลีนในใบเพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก เมื่อเทียบกับการให้ปุ๋ยไนโตรเจนที่ N150 โดยมีค่าอยู่ในช่วง 52 - 66 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างระยะเจริญเติบโตพบว่า ในระยะตั้งท้องมีปริมาณโพรลีนในใบสะสมมากที่สุด ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการจัดการน้ำและปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสมในแต่ละพันธุ์ โดยคาดว่า การสะสมปริมาณโพรลีนในใบข้าวมีความสัมพันธ์กับความหอม (2AP) ในข้าวหอมอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่าง 2AP กับปริมาณโพรลีนในใบ และศึกษาเชิงลึกในระดับโมเลกุลที่ทำให้ทราบถึงการแสดงออกของยีนที่ควบคุมปริมาณโพรลีนที่มีความสัมพันธ์กับความหอม (2AP) ในข้าวหอมต่อไป

คำสำคัญ: โพรลีน ข้าวหอม การจัดการน้ำ ไนโตรเจน

คำนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) จัดเป็นหนึ่งในแหล่งอาหารที่สำคัญของประชากรโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแถบภูมิภาคเอเชีย ที่นิยมบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ปัจจุบันนอกจากผู้บริโภคนิยมบริโภคข้าวที่มีคุณภาพการกินที่ดีแล้วกลิ่นหอมของข้าวก็ได้รับความนิยมเช่นกัน ลักษณะความหอมของข้าวมีกลิ่นหอมคล้ายกลิ่นของใบเตยหรือข้าวโพดคั่ว (Buttery et al., 1983) ซึ่งส่งผลต่อการยอมรับและเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (Suwannaporn and Linnemann, 2008) ดังนั้น กลิ่นและรสชาติจึงจัดอันดับให้เป็นเกณฑ์สำคัญ

สำหรับการวัดความพึงพอใจของผู้บริโภค (Tomlins et al., 2005)

ข้าวหอมแต่ละพันธุ์มีความหอมแตกต่างกัน เช่น ข้าวหอมบาสมามีกลิ่นคล้ายถั่วหอม (nutty aroma) ในขณะที่ข้าวหอมมะลิมีกลิ้นคล้ายกับใบเตย (*Pandanus amaryllifolius* Rookb) ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่มีชื่อเสียงของประเทศไทยที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคในแถบภูมิภาคเอเชีย ตะวันออกกลางและอเมริกา (Giraud, 2013) นอกจากข้าวหอมมะลิที่มีกลิ่นหอมแล้ว ยังมีพันธุ์ข้าวพื้นเมืองอีกมากมายที่มีกลิ่นหอม (Sansenya et al., 2018) โดยประเทศไทยมีลักษณะภูมิประเทศและสภาพอากาศในแต่ละพื้นที่มี

ความแตกต่างกัน ส่งผลให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว (Harlan, 1992) พันธุ์ข้าวปิ่นแอมูเป็นพันธุ์ข้าวหอมพื้นเมืองที่นิยมปลูกเพื่อบริโภคในบริเวณพื้นที่สูงทางตอนเหนือของประเทศไทยโดยเกษตรกรชาวไทยภูเขากลุ่มชาติพันธุ์ปกาเกอะญอ (กะเหรี่ยง) โดยลักษณะกลิ่นหอมของข้าวที่เป็นเอกลักษณ์จึงถูกเรียกชื่อพันธุ์ตามลักษณะที่ปรากฏว่าปิ่นแอมู ซึ่งหมายถึง ข้าวที่มีกลิ่นหอม (Pinmanee, 2011) จากการศึกษาของ Tejakum *et al.* (2019) พบว่าข้าวปิ่นแอมูเป็นข้าวที่คุณภาพในการหุงต้มดี มีความอ่อนนุ่ม และมีกลิ่นหอมคล้ายใบเตย มีศักยภาพในการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาข้าวหอมพื้นเมืองในอนาคต

กลิ่นหอมในเมล็ดข้าวพบว่า มีสารประกอบหลักที่ทำให้ข้าวมีกลิ่นหอมเรียกว่า 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) (Jezussek *et al.*, 2002; Okpala *et al.*, 2019) โดยปริมาณ 2AP มักพบในส่วนของพืชบริเวณเหนือดินของข้าว เช่น ลำต้น ใบ กาบใบ ใบธง และ เมล็ด แต่ยกเว้นในบริเวณส่วนของราก (Buttery *et al.*, 1983; Maraval *et al.*, 2010) Yang *et al.* (2012) ศึกษากระบวนการสังเคราะห์ 2AP พบว่า ใบข้าวที่มีการสะสมปริมาณโปรลีน (proline) สูง มีการสะสมปริมาณสาร 2AP ในเมล็ดมากกว่าข้าวที่มีปริมาณโปรลีนในใบต่ำ (Yang *et al.*, 2012) โดยกระบวนการสังเคราะห์ 2AP ที่สะสมในเมล็ดข้าวพบว่า ประกอบไปด้วยสองกลไก กลไกแรกสารหอมระเหย 2AP ถูกสังเคราะห์ขึ้นในบริเวณใบและกาบใบจากนั้นถูกส่งไปสะสมในเมล็ด ในขณะที่กลไกที่สองพบว่า โปรลีน ถูกสังเคราะห์บริเวณใบแล้วนำส่งไปที่เมล็ดเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ 2AP ในเมล็ด (Mo *et al.*, 2016; Poonlaphdecha *et al.*, 2012, 2016) จากการรายงานของ Yoshihashi *et al.* (2002) ได้ทำการทดลองปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 และศึกษาในแคลลัสพบว่าโปรลีนเป็นสารตั้งต้นหลักในการสังเคราะห์ 2AP เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า กรดอะมิโน-โปรลีน ที่เก็บสะสมในใบและลำต้นถูกใช้เป็นสารตั้งต้นสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ 2AP ที่สะสมในเมล็ด ทำให้ข้าวมีลักษณะกลิ่นหอม (Yoshihashi *et al.*, 2004)

ในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมาความพยายามค้นคว้าเพื่อทำความเข้าใจความสัมพันธ์ของปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่ส่งผลกระทบต่อกลิ่นในเมล็ดข้าวไนโตรเจนและน้ำเป็นสิ่งสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการสร้างผลผลิตของพืชเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิก ไคโตรอะมิโนโปรตีน คลอโรฟิลล์และเอนไซม์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในพืช ซึ่งประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนขึ้นอยู่กับพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมของข้าว (Djaman *et al.*, 2016) จากการศึกษาของ Yang *et al.* (2012) พบว่า ดินที่มีปริมาณไนโตรเจนสูงมีผลทำให้เมล็ดมีการสะสมปริมาณโปรลีนเพิ่มมากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับกลิ่นหอมที่เพิ่มมากขึ้นในเมล็ดข้าวหอมพื้นเมืองที่พบในประเทศจีนในข้าวพันธุ์ Xiangwanxian#13 และ Zhongxiang#1 เช่นเดียวกับ Zhong and Tang (2014) รายงานว่าปริมาณของไนโตรเจนที่เพิ่มมากขึ้นในดินส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณ 2AP ในพืช นอกจากนี้ ยังมีการค้นคว้าเกี่ยวกับปริมาณของไนโตรเจนที่ส่งผลต่อผลผลิตและคุณภาพ Ali *et al.* (2014) พบว่า ระดับไนโตรเจนที่ 12 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ และสังกะสีที่ระดับ 14 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ มีผลต่อการพัฒนาผลผลิตและคุณภาพผลผลิตโดยเฉพาะการเพิ่มปริมาณ 2AP ภายในเมล็ด

นอกจากธาตุอาหาร น้ำเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อทั้งคุณภาพ และผลผลิตข้าว (Zhang *et al.*, 2008) ในข้าว คาดว่าฤดูแล้งมีระยะเวลาที่ยาวนานและมีความรุนแรงมากขึ้น (Climate Center, 2020) ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาการขาดแคลนน้ำเพื่อการเกษตร (Arora, 2006) เมื่อเกิดภาวะขาดน้ำพบว่า มีปริมาณสารโปรลีนในใบเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเป็นกลไกการตอบสนองทางสรีระอย่างหนึ่งเพื่อลดความเครียดที่เกิดจากน้ำ (Bates *et al.*, 1973) โดยโปรลีนที่เพิ่มขึ้นช่วยปรับค่าแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) และช่วยรักษาการทำงานของเอนไซม์ในเซลล์พืชให้ดำเนินไปเป็นปกติ (Boggess *et al.*, 1976) ดังนั้น รูปแบบการชลประทานจึงส่งผลกระทบต่อคุณภาพและผลผลิตข้าว จาก

การรายงานของ Zhang *et al.* (2012) พบว่า การให้น้ำแบบน้ำขังสลับแห้งช่วยควบคุมผลผลิตข้าวให้มีคุณภาพดีขึ้น ในขณะที่เดียวกันการจัดการน้ำที่เหมาะสมหรือระดับปานกลางโดยพืชได้รับน้ำเมื่อค่าศักย์ของน้ำในดินเท่ากับ (-25 ± 2) kPa ที่ความลึก 20 เซนติเมตร ในช่วงระยะเต็มเต็มเมล็ด พบว่า มีผลต่อการเพิ่มผลผลิต และปริมาณ 2AP ภายในเมล็ดข้าว (Mo *et al.*, 2019) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Tian *et al.* (2010) และ Wang *et al.* (2013) รายงานว่าการให้น้ำแบบเปียกสลับดินแห้งปานกลาง เมื่อค่าศักย์ของน้ำในดินเท่ากับ -15 ± 5 kPa ให้น้ำท่วมผิวดิน 2 ถึง 3 เซนติเมตร ที่ระยะแตกกอ ระยะตั้งท้อง และระยะเต็มเต็มเมล็ด พบว่า มีปริมาณ 2AP ในเมล็ดข้าวเพิ่มมากขึ้น ในขณะเดียวกัน Li *et al.* (2012) ได้ศึกษาการให้น้ำในโตรเจน 60 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ และการให้น้ำที่มีค่าศักย์ของน้ำในดินเท่ากับ -20 kPa ส่งผลให้ปริมาณ 2AP ในเมล็ดข้าวกลั่นเพิ่มขึ้นอย่างมาก

แต่อย่างไรก็ตาม ข้อมูลการศึกษาถึงการสะสมปริมาณโพสเฟอรัสในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของข้าวหอมภายใต้การจัดการน้ำและไนโตรเจนที่แตกต่างกันยังมีน้อยมาก ดังนั้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการจัดการน้ำและปุ๋ยไนโตรเจนที่แตกต่างกันต่อปริมาณโพสเฟอรัสในใบ ที่ระยะแตกกอ ตั้งท้อง และออกดอกในข้าวหอมพื้นเมืองไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

พันธุ์ข้าวและแผนการทดลอง

งานทดลองในครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของการจัดการน้ำและปุ๋ยไนโตรเจนต่อปริมาณโพสเฟอรัสในใบของข้าวหอมพื้นเมืองไทย ดำเนินการ ณ โรงเรียนทดลองสาขาวิชาพืชไร่ ศูนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหิยะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เริ่มทำการทดลองเมื่อ วันที่ 23 สิงหาคม 2562 โดยศึกษาข้าวหอมพื้นเมืองพันธุ์ป๊อเนมู 4 (BNM4) เป็นข้าวนาสวนซึ่งได้จากการเก็บรวบรวมพันธุ์จากเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่ และใช้ข้าวพันธุ์ชาวดอกมะลิ 105

(KDML105) และข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 (SPR1) เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ โดยย้ายต้นกล้าข้าวที่มีอายุ 15 วัน ปลูกในกระถางที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ลึก 27 เซนติเมตร (บรรจุดิน 13.4 กิโลกรัมต่อกระถาง) โดยปลูก 1 ต้น ต่อหลุม จำนวน 5 ต้นต่อกระถาง วางแผนการทดลองแบบ $3 \times 2 \times 2$ factorial in completely randomized design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ โดยปัจจัยที่ศึกษาทั้ง 3 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 ประกอบด้วยพันธุ์ข้าว 3 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ป๊อเนมู 4 ข้าวชาวดอกมะลิ 105 และข้าวสุพรรณบุรี 1 ปัจจัยที่ 2 ได้แก่ การจัดการน้ำแบบสภาพไม่ขังน้ำและสภาพน้ำขัง โดยการจัดการน้ำแบบสภาพไม่ขังน้ำ (unsaturated) รักษาระดับความชื้นของดินให้อยู่ในช่วง 12.5 - 25 เปอร์เซ็นต์ ตลอดการทดลอง โดยใช้เครื่องมือ Takemura DM-15 เป็นตัววัดค่าความชื้นในดิน ในสภาพน้ำขัง (waterlogged) รักษาระดับน้ำให้เหนือระดับผิวดินที่ 10 เซนติเมตร และปัจจัยที่ 3 ได้แก่ การจัดการปุ๋ยไนโตรเจนโดยแบ่งไนโตรเจนออกเป็น 2 ระดับ ประกอบด้วย ปุ๋ยไนโตรเจน 60 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ (N60) และ ปุ๋ยไนโตรเจน 150 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ (N150) สำหรับ ปุ๋ยไนโตรเจนใช้ในรูปแบบปุ๋ยยูเรียเกรด 46 - 0 - 0 โดยที่ N60 ใช้ปุ๋ยยูเรีย 0.895 กรัมต่อกระถาง และที่ N150 ใช้ปุ๋ยยูเรีย 2.240 กรัมต่อกระถาง แบ่งการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะแตกกอ ระยะตั้งท้อง และระยะออกดอก ในอัตราที่เท่ากัน และทุกสภาพการทดลองใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัส (P_2O_5) 50 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ และปุ๋ยโพแทสเซียม (K_2O) 100 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ เป็นปุ๋ยรองพื้น ดินที่ใช้ปลูกมีลักษณะดินร่วนปนทรายปานกลาง ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ (OM) 2.7 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจนทั้งหมด (total N) 0.11 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorus) 22.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable potassium) 126.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปฏิกริยาของดิน (soil reaction, pH) 6.19 และค่าการนำไฟฟ้าของดิน (EC) 1.37 เดซิซีเอสเมนต่อเมตร

วิเคราะห์ปริมาณสารโปรตีน ที่สะสมในใบข้าว

สุ่มเก็บตัวอย่างใบบนสุดที่มีการแผ่ขยายใบเต็มที่ในพันธุ์ BNM4 ที่มีระยะแตกกอ 50 วันหลังย้ายกล้า ระยะตั้งท้อง 70 วันหลังย้ายกล้า และระยะออกดอก 105 วันหลังย้ายกล้า ในขณะที่พันธุ์ KDML 105 มีระยะแตกกอ 40 วันหลังย้ายกล้า ระยะตั้งท้อง 60 วันหลังย้ายกล้า และระยะออกดอก 120 วันหลังย้ายกล้า และพันธุ์ SPR1 มีระยะแตกกอ 40 วันหลังย้ายกล้า ระยะตั้งท้อง 65 วันหลังย้ายกล้า และระยะออกดอก 118 วันหลังย้ายกล้า โดยสังเกตจากลักษณะการเจริญเติบโตในแต่ละระยะ ที่ระยะแตกกอข้าวแตกกอจากข้อแรกและข้อต่อ ๆ ไป เมื่อข้าวเริ่มใบที่ 4 หรือ 5 ที่ระยะตั้งท้องข้าวเปลี่ยนลักษณะจากลำต้นแบนเป็นต้นกลมอวบ และระยะออกดอกหลังเกิดการผสมเกสรครบ 7 วัน ใบข้าวที่ถูกเก็บในแต่ละระยะถูกนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีการของ Bates *et al.* (1973) โดยนำตัวอย่างใบข้าวมาบดละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลวให้เป็นผงละเอียด หลังจากนั้นให้นำตัวอย่างใบข้าวที่บดละเอียด 0.3 กรัม ใส่หลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกไฮดริค ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 4 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ปั่นเหยียงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูดสารละลายปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสาร ninhydrin reagent ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และหยุดปฏิกิริยาทันทีโดยนำหลอดทดลองแช่ในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นเติม toluene ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายเข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สารละลายแยกเป็นสองชั้น ใช้เฉพาะส่วนชั้นบนนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารโปรตีนโดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer ร่วมกับกราฟสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (standard proline)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของข้อมูล (analysis of variance, ANOVA) โดยใช้ Statistix version 8 และเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละกรรมวิธีทดลองโดยหาค่า LSD (least significant difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษา

ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนสะสมในใบข้าวหอมพันธุ์แตกต่างกันต่อการจัดการจัดการน้ำและปุ๋ยในโตรเจนที่ระยะแตกกอ ระยะตั้งท้อง และระยะออกดอก

ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนที่สะสมในใบข้าวที่ปลูกภายใต้การจัดการน้ำและปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกันทั้ง 3 ระยะของข้าวพันธุ์ BNM4 KDML105 และ SPR1 พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุ์ข้าว การจัดการน้ำและไนโตรเจนต่อการสะสมโปรตีนในใบที่ระยะแตกกอ และระยะออกดอก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) แต่ไม่พบปฏิสัมพันธ์ร่วมทั้ง 3 ปัจจัยที่ระยะตั้งท้อง (Table 1)

ปริมาณโปรตีนในใบที่ระยะแตกกอ

การตอบสนองของปริมาณโปรตีนในใบของพันธุ์ข้าวทั้งสามพันธุ์ต่อการจัดการน้ำและไนโตรเจนที่ต่างกันในระยะแตกกอ (Figure 1) พบว่า ข้าวหอมพันธุ์ KDML105 ที่ปลูกภายใต้สภาพไม่ขังน้ำร่วมกับการให้น้ำในโตรเจนที่อัตรา N150 มีปริมาณโปรตีนมากกว่าที่ N60 เท่ากับ 45 เปอร์เซ็นต์ เมื่อปลูกในสภาพเดียวกัน แต่เมื่อปลูกในสภาพน้ำขังการให้น้ำในโตรเจนที่ระดับ N60 มีปริมาณโปรตีนมากกว่าที่ N150 เท่ากับ 67 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับพันธุ์ SPR1 ที่เมื่อปลูกในสภาพน้ำขังการให้น้ำในโตรเจนที่อัตรา N60 ทำให้มีปริมาณโปรตีนมากกว่าที่ N150 เท่ากับ 36 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อปลูกในสภาพไม่ขังน้ำไม่พบความแตกต่างระหว่างการให้ปุ๋ยทั้งสองอัตรา ในขณะที่พันธุ์ BNM4 ไม่พบการตอบสนองที่แตกต่างกันของปริมาณโปรตีนในใบภายใต้การจัดการน้ำ

และไนโตรเจนที่แตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาระหว่างพันธุ์ข้าว พบว่า พันธุ์ KDML105 มีค่าเฉลี่ยปริมาณโพรลีนสะสมในใบมากที่สุดเท่ากับ 0.27 ไมโครโมลต่อกรัม รองลงมาคือ SPR1 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.14 ไมโครโมลต่อกรัม การจัดการ น้ำที่แตกต่างกัน พบว่า ปลูกในสภาพน้ำขังทำให้ข้าวมีการสะสม

ปริมาณโพรลีนในใบมากที่สุดเท่ากับ 0.20 ไมโครโมลต่อกรัม ในขณะที่การปลูกในสภาพไม่ขังน้ำมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.17 ไมโครโมลต่อกรัม และการให้ปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา N60 มีปริมาณมากกว่า N150 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.20 และ 0.16 ไมโครโมลต่อกรัมตามลำดับ

Table 1. Combined analysis of leaves proline accumulation at tillering, booting and flowering stages of rice variety BNM 4 KDML105 and SPR1 grown under different water regimes and nitrogen rates

Source	Growth stage		
	Tillering stage	Booting stage	Flowering stage
Var	***	***	***
Water	***	***	ns
Nitrogen	***	***	***
Var x Water	*	*	***
Var x Nitrogen	***	ns	***
Water x Nitrogen	***	***	***
Var x Water x Nitrogen	***	ns	***

ns = not significant at $P > 0.05$, * = significant difference at $P < 0.05$, *** = significant difference at $P < 0.001$

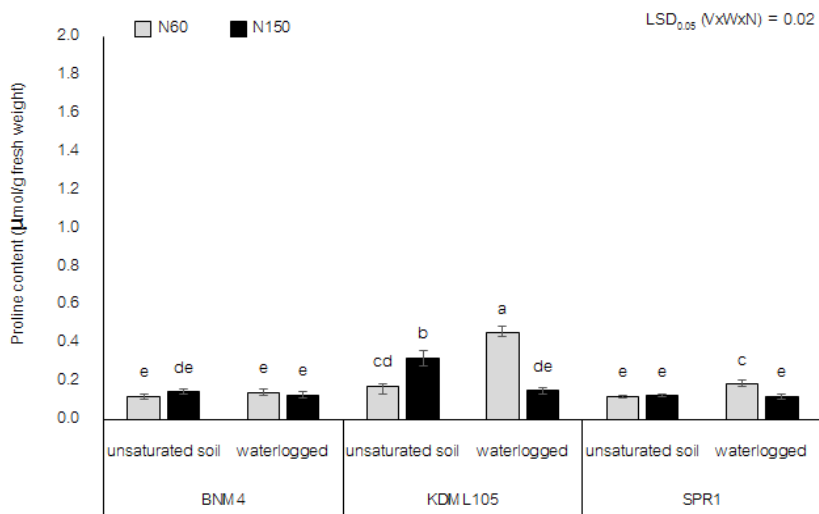


Figure 1. Leave proline content at tillering stage in rice variety BNM4, KDML105 and SPR1 grown under different water and nitrogen management. The different letter above the column indicates difference at $P < 0.05$ by LSD test

ปริมาณโพรลีนในใบที่ระยะตั้งท้อง

ในระยะตั้งท้องพบว่า การจัดการน้ำและไนโตรเจนมีผลต่อการปริมาณโพรลีนในใบข้าวแตกต่างกัน (Figure 2) โดยทั้งในพันธุ์ BNM4 KDML105 และ SPR1 เมื่อปลูกในสภาพไม่ขังน้ำการให้น้ำไนโตรเจนที่อัตรา N150 ส่งผลให้มีปริมาณโพรลีนในใบเพิ่มมากกว่าที่ไนโตรเจนอัตรา N60 คิดเป็น 40, 46 และ 37 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ในทางกลับกันเมื่อปลูกในสภาพน้ำขังร่วมกับการให้น้ำไนโตรเจนที่ N60 ทำให้ปริมาณโพรลีนในใบเพิ่มสูงขึ้นมากอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับการให้น้ำไนโตรเจนที่ N150 ในทั้ง BNM4, KDML105 และ SPR1 โดยมีค่ามากกว่าเท่ากับ 66, 52 และ 57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณโพรลีนระหว่างพันธุ์พบว่า พันธุ์ KDML105 และ SPR1 มีค่าเฉลี่ยปริมาณโพรลีนสะสมในใบมากที่สุดเท่ากับ 0.77 และ 0.79 ไมโครโมลต่อกรัม ตามลำดับ และพบว่า BNM4 มีค่าเฉลี่ยปริมาณโพรลีนสะสมในใบน้อยที่สุดเท่ากับ 0.63 ไมโครโมลต่อกรัม การจัดการน้ำที่แตกต่างกันพบว่า การปลูกในสภาพน้ำขังทำให้ข้าวมีค่าเฉลี่ยโพรลีนสะสมในใบมากที่สุดเท่ากับ 1.08 ไมโครโมลต่อกรัม ในขณะที่การปลูกในสภาพไม่ขังน้ำมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.39 ไมโครโมลต่อกรัม และอัตรา

ปุ๋ยไนโตรเจนที่ N60 ข้าวมีค่าเฉลี่ยโพรลีนสะสมในใบเท่ากับ 0.93 ไมโครโมลต่อกรัม ซึ่งมากกว่าไนโตรเจนอัตรา N150 มีค่าเฉลี่ยโพรลีนสะสมในใบเท่ากับ 0.54 ไมโครโมลต่อกรัม

ปริมาณโพรลีนในใบที่ระยะออกดอก

พันธุ์ข้าวที่ศึกษามีปริมาณโพรลีนในใบแตกต่างกันขึ้นอยู่กับการจัดการน้ำและไนโตรเจน (Figure 3) พบว่า ในพันธุ์ KDML105 ที่ปลูกในสภาพน้ำขังร่วมกับการให้น้ำไนโตรเจนที่อัตรา N150 มีปริมาณโพรลีนในใบเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับที่ N60 โดยคิดเป็น 49 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการปลูกในสภาพไม่ขังน้ำไม่พบความแตกต่างของปริมาณโพรลีนในใบระหว่างการให้น้ำไนโตรเจนทั้งสองระดับ ในขณะที่พันธุ์ BNM4 และ SPR1 การให้น้ำไนโตรเจนที่แตกต่างกันไม่ทำให้ปริมาณโพรลีนแตกต่างกันทั้งในการแบบสภาพน้ำขังและสภาพไม่ขังน้ำ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพบว่า พันธุ์ KDML105 มีปริมาณโพรลีนในใบมากกว่าพันธุ์ BNM4 และ SPR1 โดยมีค่าเท่ากับ 0.39 ไมโครโมลต่อกรัม และการให้น้ำไนโตรเจนที่อัตรา N150 ข้าวมีค่าเฉลี่ยโพรลีนสะสมในใบมากที่สุดเท่ากับ 0.38 ไมโครโมลต่อกรัม ในขณะที่ N60 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.32 ไมโครโมลต่อกรัม

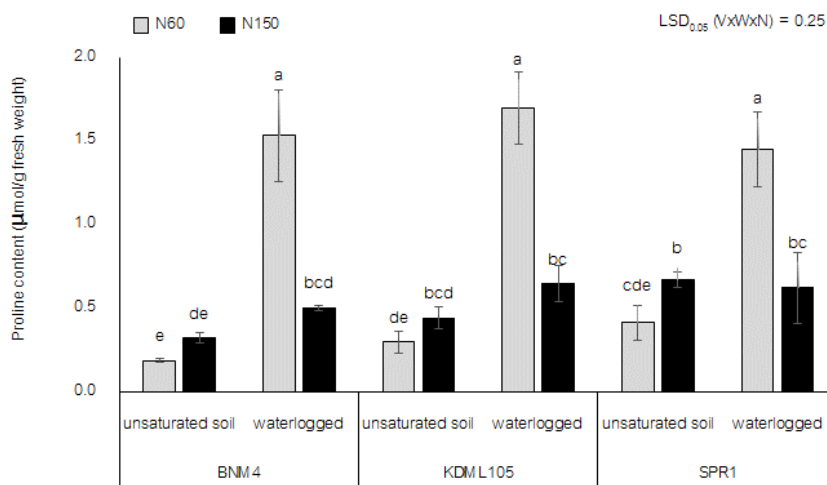


Figure 2. Leave proline content at booting stage in rice variety BNM4, KDML105 and SPR1 grown under different water and nitrogen management. The different letter above the column indicates difference at $P < 0.05$ by LSD test

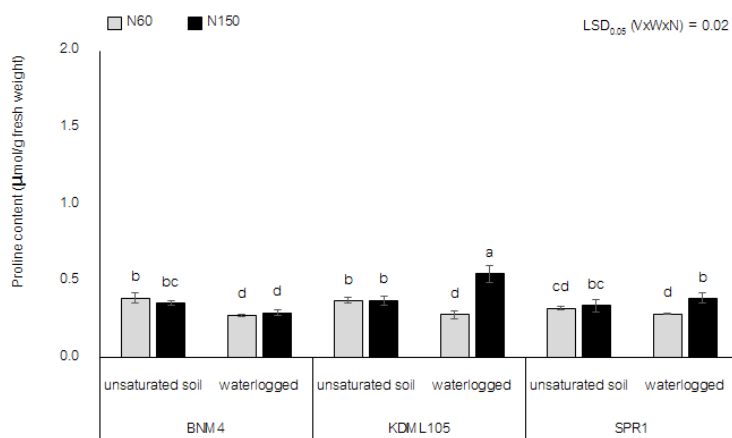


Figure 3. Leaf proline content at flowering stage in rice variety BNM4, KDML105 and SPR1 grown under different water and nitrogen management. The different letter above the column indicates difference at $P < 0.05$ by LSD test

วิจารณ์

จากการศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ได้ว่าปริมาณโปรลีนในใบข้าวในระยะแตกกอ และออกดอก มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างสามปัจจัยทั้งพันธุ์ข้าว การจัดการน้ำ และอัตราปุ๋ยไนโตรเจน ยกเว้นในระยะตั้งท้องที่ปริมาณ โปรลีนในข้าวทั้งสามพันธุ์มีการตอบสนองต่อการจัดการน้ำและอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่แตกต่างกันในทิศทางเดียวกัน ซึ่งความแปรปรวนของปริมาณโปรลีนภายใต้การจัดการสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันที่พบในการศึกษานี้ อาจกล่าวได้ว่าพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกันมีการตอบสนองต่อการจัดการน้ำร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจนส่งผลต่อการสะสมปริมาณโปรลีนในใบข้าวแตกต่างกัน จากการศึกษาของ Zhong *et al.* (2017) พบว่า ข้าวพันธุ์ Zhongzheyu#1 ที่ปลูกในสภาพไม่ขังน้ำเมื่อได้รับไนโตรเจนมากส่งผลต่อการสังเคราะห์โปรลีนเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่จากการศึกษาของ Rabiei *et al.* (2021) รายงานผลการทดลองปลูกข้าว Gilaneh ในสภาพน้ำท่วมขังดิน (flood irrigation) ร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจน 3 ระดับ (0, 60, and 120 kg/ha) และโพแทสเซียม 3 ระดับ (0, 80 and 160 kg/ha) พบว่า ที่ระดับปุ๋ยไนโตรเจน 60 kg/ha ร่วมกับโพแทสเซียม 160 kg/ha ข้าวมีการสะสม

ปริมาณโปรลีนในใบมากที่สุด ในขณะที่ Mo *et al.* (2019) รายงานผลการปลูกข้าวพันธุ์ Nongxiang 18 และ Basmati 385 ซึ่งแบ่งการจัดการน้ำออกเป็นสองสภาพโดยมีศักย์ของน้ำในดินเท่ากับ 0 kPa และ -25 ± 5 kPa ร่วมกับไนโตรเจน 0 และ 60 kg/ha พบว่าในข้าวทั้งสองพันธุ์ที่ศักย์ของน้ำในดินเท่ากับ -25 ± 5 kPa ร่วมกับไนโตรเจน 60 kg/ha ใบข้าวมีการสะสมปริมาณโปรลีนมากที่สุด นอกจากนี้ Bao *et al.* (2018) พบว่า การปลูกข้าวร่วมกับการจัดการน้ำแบบเปียกสลับแห้งส่งผลต่อการสะสมปริมาณโปรลีนในใบข้าวมากขึ้น โดยโปรลีนที่สะสมในพืชทำหน้าที่รักษาเสถียรภาพของเมมเบรนและรักษาระดับ pH ของไซโตซอลควบคู่ไปกับเมแทบอลิซึมเพื่อใช้ในการเติบโตของพืช (Hayat *et al.*, 2012) นอกจากนี้ ยังมีการรายงานผลจากสภาวะเครียดของพืชส่งผลต่อการสะสมปริมาณโปรลีนในพืช เช่นเดียวกับการศึกษาของ Al-Shaheen and Soh (2016) พบว่า ผลจากสภาวะเครียดจากการขาดน้ำ (ความชื้นที่ 25 เปอร์เซ็นต์, 50 เปอร์เซ็นต์ และ 75 เปอร์เซ็นต์ จากความจุความชื้นสนาม) ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณโปรลีนในพืช เพื่อช่วยลดผลกระทบจากสภาวะเครียดต่อการเจริญเติบโตของพืช

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโพสลินในใบข้าวแต่ละพันธุ์ ทั้ง 3 ระยะ ได้แก่ ระยะแตกกอ ระยะตั้งท้อง และระยะออกดอก พบว่า ข้าวมีโพสลินสะสมในใบสูงสุดที่ระยะตั้งท้อง และลดลงในระยะออกดอก จากการศึกษาของ Bradbury *et al.* (2008) พบว่าโพสลินที่พืชสะสมถูกนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ 2AP ซึ่งทำให้ข้าวมีกลิ่นหอม ซึ่งปริมาณของโพสลินที่เพิ่มขึ้นในใบธงนำไปสู่การสังเคราะห์ 2AP ในข้าวกล้อง (Krasensky and Jonak, 2012) สอดคล้องกับการศึกษาของ Mo *et al.* (2016) พบว่าโพสลินที่สะสมในส่วนเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของพืชถูกส่งไปยังเมล็ดเพื่อเปลี่ยนเป็น 2AP สะสมในเมล็ด ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของปริมาณโพสลินที่สะสมในใบในระยะตั้งท้อง และลดลงในช่วงระยะออกดอก อาจเนื่องมาจากโพสลินถูกนำไปใช้ในการสะสม 2AP ในเมล็ดข้าวที่มีกลิ่นหอม ในขณะที่เดียวกันข้าวพันธุ์ SPR1 ที่ไม่มีกลิ่นหอมพบว่า มีการสะสมปริมาณโพสลินในใบเช่นเดียวกับข้าวที่มีลักษณะกลิ่นหอม โดยมีรายงานว่า ปริมาณโพสลินที่สะสมในข้าวที่ไม่มีลักษณะกลิ่นหอมถูกนำไปเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์ Gamma aminobutyric - acid (GABA) (Ghosh and Roychoudhury, 2018) นอกจากนี้ Mo *et al.* (2018) ได้กล่าวว่าหากเพิ่มไนโตรเจนที่ระยะตั้งท้องจะช่วยเพิ่มปริมาณโพสลินและ 2AP ในส่วนของเนื้อเยื่อพืชต่าง ๆ ก่อนถึงระยะเต็มเต็มเมล็ด ทำให้เมล็ดข้าวมีกลิ่นหอม เช่นเดียวกับการทดลองในครั้งนี้ในระยะตั้งท้องพบว่า เมื่อมีการปลูกในสภาพไม่ขังน้ำและมีการเพิ่มอัตราไนโตรเจนเพิ่มเป็น N150 ข้าวมีปริมาณโพสลินในใบเพิ่มสูงขึ้น ในขณะเดียวกันเมื่อปลูกในสภาพน้ำขังร่วมกับไนโตรเจนที่ N60 ข้าวมีปริมาณโพสลินในใบสูง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Tarighaleslami *et al.* (2012) ได้ศึกษาระดับปุ๋ยไนโตรเจนในข้าวโพดที่ระดับ 80, 130, 130 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ พบว่า ที่ระดับไนโตรเจน 80 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ข้าวโพดมีปริมาณโพสลินในใบสูงสุดร่วมกับสภาวะเครียดจากน้ำ นอกจากนี้ การศึกษาของ Lalelou *et al.* (2010) ในข้าวสาลีพบว่า สภาวะเครียด

ที่เกิดจากน้ำส่งผลต่อปริมาณโพสลินเพิ่มขึ้น มากกว่าผลกระทบจากไนโตรเจน อย่างไรก็ตามยังจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไปเพื่อบ่งชี้ว่าปริมาณโพสลินที่เพิ่มขึ้นนี้เกี่ยวข้องกับความหอม (2AP) หรือไม่ รวมทั้งมีการศึกษาเพิ่มเติมในเชิงลึกทั้งในด้านกระบวนการทางสรีรวิทยาเพื่ออธิบายถึงความสัมพันธ์ระหว่างการสะสมปริมาณโพสลินและความหอม (2AP) และทางด้านชีวโมเลกุลเพื่อบ่งชี้ถึงการแสดงออกของยีนที่ควบคุมปริมาณโพสลินที่มีความสัมพันธ์กับความหอม ในข้าวหอมพันธุ์พื้นเมืองของไทยภายใต้การจัดการน้ำและปุ๋ยไนโตรเจนที่แตกต่างกันต่อไป

สรุป

ปริมาณโพสลินในพันธุ์ข้าวทั้ง 3 พันธุ์มีการตอบสนองต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยไนโตรเจนแตกต่างกันในระยะแตกกอ และออกดอก ส่วนในระยะตั้งท้องพบว่า ปริมาณโพสลินทั้งในใบทั้งพันธุ์ BNM4 KDML105 และ SPR1 มีการตอบสนองต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยไนโตรเจนในทิศทางเดียวกันคือที่ระยะตั้งท้องการปลูกในสภาพน้ำขังร่วมกับไนโตรเจนที่ 60 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ใบข้าวมีการสะสมโพสลินสูงสุด ในขณะเดียวกันการเพิ่มไนโตรเจนในพันธุ์ข้าวหอมในสภาพไม่ขังน้ำไม่มีผลต่อการเพิ่มโพสลิน แต่เมื่อปลูกในสภาพน้ำขังร่วมกับการให้ไนโตรเจนที่ 60 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ กลับทำให้ข้าวทั้งสามพันธุ์มีปริมาณโพสลินในใบเพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก เมื่อเทียบกับการให้ปุ๋ยไนโตรเจนที่ 150 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ และในระยะตั้งท้องมีปริมาณโพสลินในใบสะสมมากที่สุดเมื่อเทียบกับระยะแตกกอและออกดอก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการทุนวิจัยบัณฑิตศึกษาด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) และโครงการ Nutrient management, next generation

sequencing technology and breeding for improving grain yield and nutritional quality in Thai local fragrant rice สนับสนุนโดย The Royal Society, United Kingdom และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

เอกสารอ้างอิง

- Ali, H., Z. Hasnain, A.N. Shahzad, N. Sarwar, M.K. Qureshi, S. Khaliq and M.F. Qayyum. 2014. Nitrogen and zinc interaction improves yield and quality of submerged basmati rice (*Oryza sativa* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 42(2): 372-379.
- Al-Shaheen, M.R. and A. Soh. 2016. Effect of proline and gibberellic acid on the qualities and qualitative of Corn (*Zea mays* L.) under the influence of different levels of the water stress. *International Journal of Scientific and Research Publications* 6(5): 752-756.
- Arora, V.K. 2006. Application of a rice growth and water balance model in an irrigated semi-arid subtropical environment. *Agricultural Water Management* 83(1-2): 51-57.
- Bao, G., U. Ashraf, C. Wang, L. He, X. Wei, A. Zheng and X. Tang. 2018. Molecular basis for increased 2-acetyl-1-pyrroline contents under alternate wetting and drying (AWD) conditions in fragrant rice. *Plant Physiology and Biochemistry* 133: 149-157.
- Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39(1): 205-207.
- Boggess, S.F., C.R. Stewart, D. Aspinall and L.G. Paleg. 1976. Effect of water stress on proline synthesis from radioactive precursors. *Plant Physiology* 58(3): 398-401.
- Bradbury, L.M.T., S.A. Gillies, D.J. Brushett, D.L.E. Waters and R.J. Henry. 2008. Inactivation of an aminoaldehyde dehydrogenase is responsible for fragrance in rice. *Plant Molecular Biology* 68(4): 439-449.
- Buttery, R.G., L.C. Ling, B.O. Juliano and J.G. Turnbaugh. 1983. Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 31(4): 823-826.
- Climate Center. 2020. Volatility and Climate Change 2020. (Online). Available: <http://www.climate.tmd.go.th/content/file/2104> (March 28, 2022). (in Thai)
- Djaman, K., B.V. Bado and V.C. Mel. 2016. Effect of nitrogen fertilizer on yield and nitrogen use efficiency of four aromatic rice varieties. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 28(2): 126-135.
- Ghosh, P. and A. Roychoudhury. 2018. Differential levels of metabolites and enzymes related to aroma formation in aromatic indica rice varieties: comparison with non-aromatic varieties. *3 Biotech* 8(1): 1-13.
- Giraud, G. 2013. The world market of fragrant rice, main issues and perspectives. *International Food and Agribusiness Management* 16(2): 1-20.
- Harlan, J.R. 1992. *Crops and Man*. 2nd ed. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison, Wisconsin. 284 p.
- Hayat, S., Q. Hayat, M.N. Alyemeni, A.S. Wani, J. Pichtel and A. Ahmad. 2012. Role of proline under changing environments: A review. *Plant Signaling & Behavior* 7(11): 1456-1466.

- Jezussek, M., B.O. Juliano and P. Schieberle. 2002. Comparison of key aroma compounds in cooked brown rice varieties based on aroma extract dilution analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(5): 1101-1105.
- Krasensky, J. and C. Jonak. 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany* 63(4): 1593-1608.
- Lalelou, F.A., M.R. Shakiba, N.A.D. Mohammadi and S.A. Mohammadi. 2010. Effects of drought stress and nitrogen nutrition on seed yield and proline content in bread and durum wheat genotypes. *Journal of Food Agriculture Environment* 88(3-4): 857-860.
- Li, D.Q., Q.Y. Tang, Y.B. Zhang, J.Q. Qin, L.I. Hu, L.J. Chen and S.B. Peng. 2012. Effect of nitrogen regimes on grain yield, nitrogen utilization, radiation use efficiency, and sheath blight disease intensity in super hybrid rice. *Journal of Integrative Agriculture* 11(1): 134-143.
- Maraval, I., K. Sen, A. Agrebi, C. Menut, A. Morere, R. Boulanger and Z. Gunata. 2010. Quantification of 2-acetyl-1-pyrroline in rice by stable isotope dilution assay through headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 675(2): 148-155.
- Mo, Z., J. Huang, D. Xiao, U. Ashraf, M. Duan, S. Pan and X. Tang. 2016. Supplementation of 2-Ap, Zn and La improves 2-acetyl-1-pyrroline concentrations in detached aromatic rice panicles *in vitro*. *PloS one* 11(2): e0149523, doi: 10.1371/journal.pone.0149523.
- Mo, Z., Y. Tang, U. Ashraf, S. Pan, M. Duan, H. Tian and X. Tang. 2019. Regulations in 2-acetyl-1-pyrroline contents in fragrant rice are associated with water-nitrogen dynamics and plant nutrient contents. *Journal of Cereal Science* 88: 96-102.
- Mo, Z., U. Ashraf, Y. Tang, W. Li, S. Pan, M. Duan, H. Tian and X. Tang. 2018. Nitrogen application at the booting stage affects 2-acetyl-1-pyrroline, proline, and total nitrogen contents in aromatic rice. *Chilean Journal of Agricultural Research* 78(2): 165-172.
- Okpala, N.E., Z. Mo, M. Duan and X. Tang. 2019. The genetics and biosynthesis of 2-acetyl-1-pyrroline in fragrant rice. *Plant Physiology and Biochemistry* 135: 272-276.
- Pinmanee, S. 2011. The aromatic highland rice “Buer Ner Moo”. pp. 357-368. *In: Seminar of the group of Upper and Lower Northern Region Rice Research Center February 14-16, Phare. (in Thai)*
- Poonlaphdecha, J., P. Gantet, I. Maraval, F.X. Sauvage, C. Menut, A. Morère and Z. Gunata. 2016. Biosynthesis of 2-acetyl-1-pyrroline in rice calli cultures: Demonstration of 1-pyrroline as a limiting substrate. *Food Chemistry* 197: 965-971.
- Poonlaphdecha, J., I. Maraval, S. Roques, A. Audebert, R. Boulanger, X. Bry and Z. Gunata. 2012. Effect of timing and duration of salt treatment during growth of a fragrant rice variety on yield and 2-acetyl-1-pyrroline, proline, and GABA levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(15): 3824-3830.

- Rabiei, Z., N.M. Roshan, S.M. Sadeghi, E. Amiri and H.R. Doroudian. 2021. Effect of drought stress and different levels of nitrogen and potassium fertilizers on the accumulation of osmolytes and chlorophyll in rice (*Oryza sativa* L.). *Gesunde Pflanzen* 73(3): 287-296.
- Sansenya, S., Y. Hua and S. Chumanee. 2018. The correlation between 2-acetyl-1-pyrroline content, biological compounds and molecular characterization to the aroma intensities of Thai local rice. *Journal of Oleo Science* 67(7): 893-904.
- Suwannaporn, P. and A. Linnemann. 2008. Rice - eating quality among consumers in different rice grain preference countries. *Journal of Sensory Studies* 23(1): 1-13.
- Tarighaleslami, M., R. Zarghami, M.M.A. Boojar and M. Oveysi. 2012. Effects of drought stress and different nitrogen levels on morphological traits of proline in leaf and protein of corn seed (*Zea mays* L.). *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 12: 49-56.
- Tejakum, P., S. Khumto, S. Jamjod, N. Yimyam and T. Pusadee. 2019. Yield, grain quality and fragrance of a highland fragrant rice landrace variety, Bue Ner Moo. *Khon Kaen Agriculture Journal* 47(2): 317-326. (in Thai)
- Tian, K., X.R. Tang, M.Y. Duan and H. Tian. 2010. Effects of irrigation on aroma content and physiological characteristics of aromatic rice at grain filling stage. *Irrigation and Drainage* 29(6): 91-93.
- Tomlins, K.I., J.T. Manful, P. Larwer and L. Hammond. 2005. Urban consumer preferences and sensory evaluation of locally produced and imported rice in West Africa. *Food Quality and Preference* 16(1): 79-89.
- Wang, P., X.R. Tang, H. Tian, P. Sheng-gang, M.Y. Duan and J. Nie. 2013. Effects of different irrigation modes on aroma content of aromatic rice at booting stage. *Guangdong Agricultural Science* 8: 1-3.
- Yang, S., Y. Zou, Y. Liang, B. Xia, S. Liu, M. Ibrahim, D. Li, Y. Li, L.Chen, Y. Zeng, L. Liu, Y. Chen, P. Li and J. Zhu. 2012. Role of soil total nitrogen in aroma synthesis of traditional regional aromatic rice in China. *Field Crops Research* 125: 151-160.
- Yoshihashi, T., N.T.T. Huong and H. Inatomi. 2002. Precursors of 2-acetyl-1-pyrroline, a potent flavor compound of an aromatic rice variety. *Journal of agricultural and food chemistry* 50(7): 2001-2004.
- Yoshihashi, T., T.T. Nguyen and N. Kabak. 2004. Area dependency of 2-acetyl-1-pyrroline content in an aromatic rice variety, Khao Dawk Mali 105. *The Japan Agricultural Research Quarterly* 38(2): 105-109.
- Zhang, Y., Q. Tang, S. Peng, D. Xing, J. Qin, R.C. Laza and B.R. Punzalan. 2012. Water use efficiency and physiological response of rice cultivars under alternate wetting and drying conditions. *The Scientific World Journal* 2012(4): 287907, doi: 10.1100/2012/287907.
- Zhang, Z., S. Zhang, J. Yang and J. Zhang. 2008. Yield, grain quality and water use efficiency of rice under non-flooded mulching cultivation. *Field Crops Research* 108(1): 71-81.

Zhong, C., X. Cao, J. Hu, L. Zhu, J. Zhang, J. Huang and Q. Jin. 2017. Nitrogen metabolism in adaptation of photosynthesis to water stress in rice grown under different nitrogen levels. *Frontiers in Plant Science* 8: 1079, doi: 10.3389/fpls.2017.01079.

Zhong, Q. and X. Tang. 2014. Effect of nitrogen application on aroma of aromatic rice and their mechanism. *Guangdong Agricultural Sciences* 41(4): 85-87.