บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ภาวะดินเค็มเป็นปัจจัยหลักของการจำกัดการเจริญเติบโตของพืชหลายๆชนิด โดยพื้นดินมากกว่า 381 ล้านเฮกแตร ทั่วโลกเป็นพื้นที่ดินเค็ม (Martinez-Beltran และManzur, 2005) ความเค็มของเกลือมีผลต่อพื้นที่ชลประทานประมาณ 30-50% ทั่วโลกทั้งในพื้นที่แห้งแล้งและกึ่งแห้งแล้ง ซึ่งส่งผลต่อพื้นดินทำกินของประชากรโลก (Bot และคณะ, 2000; Bossio และคณะ, 2007) ดินเค็ม (saline soil) คือดินที่มีปริมาณเกลือละลายอยู่ในสารละลายดินมากเกินไปมีพืชต่อการเจริญเติบโตของพืชและทำให้ผลผลิตพืชลดลงอย่างชัดเจนหรือเป็นดินที่มีการนำไฟฟ้าตั้งแต่ 4 ds/m (เดซิซีเม็นต่อเมตร) ซึ่งจัดว่าเป็นดินเค็มโดยวัดได้จากค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายซึ่งสกัดจากดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำ (soil saturation extract) (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2544) ความเค็มนี้ทำให้พืชเกิดอาการขาดน้ำ อีกทั้งมีการสะสมของไอออนที่เป็นพิษในพืชมากเกินไป ในดินเค็มพบไอออนหลายชนิดได้แก่ ไอออนบวกของโซเดียม (Na^+) แมกนีเซียม (Mg^{2+}) และแคลเซียม (Ca^{2+}) รวมถึงไอออนลบของคลอไรด์ (Cl^-) ไนเตรต (NO_3^-) ไฮโดรเจนคาร์บอเนต (HCO_3^-) และซัลเฟต (SO_4^{2-}) (Bernstein, 1975) สำหรับดินเค็มในประเทศไทยพบทั่วไปในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พื้นที่ชายทะเลและภาคกลาง โดยมีสาเหตุมาจากแหล่งเกลือที่ต่างกัน โดยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ดินเค็มมากที่สุดประมาณ 17.8 ล้านไร่ คิดเป็นหนึ่งในสามของพื้นที่ทั้งหมดในประเทศไทย (พิชัย วิชัยดิษฐ์, 2540) พื้นที่ดินเค็มชายทะเลนั้นมีสาเหตุมาจากอิทธิพลการขึ้นลงของน้ำทะเลโดยตรงรวมถึงการใช้ประโยชน์พื้นที่ดินเค็มชายทะเลอย่างไม่เหมาะสม ซึ่งรวมแล้วมีเนื้อที่ประมาณ 3.6 ล้านไร่ (ยงยุทธ โอสถสภา และคณะ, 2541) สำหรับดินเค็มในบริเวณภาคกลางพบว่ามีพื้นที่ที่มีปัญหาดินเค็มประมาณ 1.13 ล้านไร่ พบในจังหวัด นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ชัยนาท สิงห์บุรี จากหลักฐานการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำทะเล ภาคกลางเป็นพื้นที่ที่เคยมีน้ำทะเลท่วมถึงเมื่อประมาณ 8,000 ปีที่ผ่านมา เกิดการทับถมของตะกอน(คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2544) ทั้งนี้ปัญหาดินเค็มอาจเกิดได้จากธรรมชาติ โดย

เกิดจากการที่พื้นที่มีฝนตกน้อย มีการระเหยของน้ำจากผิวดินสูง รวมถึงมีการเคลื่อนที่ของเกลือขึ้นมาสะสมที่ผิวดิน (Rengasamy, 2006) และสาเหตุที่เกิดจากมนุษย์นั้นได้แก่ การทำเกลือสินเธาว์ การใช้น้ำชลประทานเพื่อการเกษตรอย่างไม่ถูกต้อง การตัดไม้ทำลายป่า การสร้างแหล่งน้ำบนพื้นที่ดินเค็ม (อรุณี ยูวนิยม, 2546; Dajic, 2006)

ภาวะดินเค็มมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช พืชจะมีการตอบสนองต่อความเค็มโดยจะมีการลดการขยายขนาดของใบรวมไปถึงการลดลงของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของ ใบ ลำต้น ราก เห็นได้จากต้นข้าวระยะต้นกล้า (seedling) จะมีน้ำหนักสดต้นและรากลดลงมากเมื่อให้เกลือโซเดียมคลอไรด์ NaCl ที่ความเข้มข้น 200 mM (Sultana และคณะ, 1999) และน้ำหนักรวงข้าว (panicle) ก็ลดลงเช่นเดียวกันเมื่อให้เกลือโซเดียมคาร์บอเนต Na_2CO_3 ที่ความเข้มข้น 20 mM (Bu และคณะ, 2012) นอกจากนี้ยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายวิภาคในพืชเช่น ใบฝรั่งมีจำนวนคลอโรฟิลล์ลดลง มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculuentum*) มีจำนวนใบ พื้นที่ใบ และความหนาแน่นของปากใบลดลง (Mohammad และคณะ, 1998; Romeroaranda และคณะ, 2001) ฝ้าย (*Gossypium hirsutum*) มีจำนวนใบและ ความยาวรากลดลง (Meloni และคณะ, 2001) ทั้งนี้ความไม่สมดุลกันของไอออนของเกลือภายในเซลล์พืชที่มีการสะสมมากเกินไปทำให้เกิดความเป็นพิษ (ion toxicity) (Munns และคณะ, 2006) เมื่อความเค็มในสารละลายดินเพิ่มมากขึ้นรากพืชจึงดูดน้ำจากดินได้น้อยลง ส่งผลให้พืชเกิดความเครียดจากภาวะขาดน้ำ (osmotic stress) เนื่องจากค่าศักย์ของน้ำ (water potential) ในดินลดลง ส่งผลให้เกิดการลดลงของค่าความต่างของศักย์ของน้ำภายในเซลล์พืชและภายนอกเซลล์พืช (water potential gradient) รวมถึงแรงดันเต่งในพืช (turgor pressure) ลดลง (Taiz และ Zeiger, 2006; Meloni และคณะ, 2001) เช่นใน เบญจมาศ (*Chrysanthemum monrifolium*) และซีเอสเตอร์ (*Aster tripolium*) (Matsumura และคณะ ,1998) ทั้งนี้ภาวะดินเค็มยังมีผลต่อจุลินทรีย์บางชนิดในดินทำให้มีผลต่อกระบวนการทางชีวเคมีสำหรับการย่อยสลายอินทรียวัตถุในดิน (Tripathi และคณะ, 2006; Yuan และคณะ, 2007) นอกจากนี้ภาวะเค็มยังชักนำให้เกิด oxidative stress พบว่าในเซลล์พืชมีการเพิ่มขึ้นของ reactive oxygen species (ROSs) เช่น superoxide ($O_2^{\cdot-}$) hydroxyl radicals ($^{\cdot}OH$) singlet oxygen ($^1O_2$) และ hydrogen peroxide (H_2O_2) ROSs เหล่านี้เป็นพิษต่อเซลล์โดยไปทำลายโปรตีน กรดนิวคลีอิก และไขมัน มีผลทำให้เยื่อหุ้มเซลล์พืชสูญเสียการทำงาน และเซลล์ตาย (Dat และคณะ,

2000; Bohnert และ Jensen, 1996; Hernandez และคณะ, 2001) สำหรับความสามารถในการปรับตัวต่อภาวะเค็มของพืชพบว่ามีความแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดหรือในพืชชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์กัน (Flowers และคณะ, 1997)

ภาวะความเค็มมีผลต่อกระบวนการต่างๆเช่น กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis) กระบวนการเผาผลาญไขมัน (lipid metabolism) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช (photosynthesis) จากการศึกษาพบว่าพืชที่อยู่ในภาวะเค็มจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงต่ำกว่าในพืชในภาวะปกติ เนื่องจากเกิด oxidative stress (Parida และ Das, 2005; Chaves, 2009) ทั้งนี้เกิดจากในใบพืชมีปริมาณของคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ลดลงภายใต้ภาวะเค็ม (Kennedy และ De Fillippis, 1999) ภาวะเค็มลดการส่งถ่ายอิเล็กตรอน (electron transport chain) ในระบบแสงที่สอง (Photosystem II) (Lu และ Vonshak, 1999) และยังทำให้ประสิทธิภาพการใช้น้ำ และการทำงานของเอนไซม์ Rubisco ลดลง (Zhu และ Meinzer,1999) ผลกระทบของความเค็มที่เห็นได้จากพืชที่มีลักษณะอ่อนแอต่อภาวะเค็ม (glycophyte หรือ non-halophytes) เช่น ข้าว (*Oryza sativa*) แก่นตะวัน (*Helianthus tuberosus*) และข้าวสาลี (*Triticum aestivum)* ซึ่งพบว่าในภาวะเค็มมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง การคายน้ำ ค่าความหนาแน่นของปากใบ (stomatal density) และค่าการชักนำการเปิดของปากใบ (stomatal conductance) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับภาวะปกติ (Li และคณะ, 2012; Huang และคณะ, 2012; Zheng และคณะ, 2009)

งานวิจัยนี้มีเป้าหมายในการศึกษาเพื่อให้ทราบถึงการตอบสนองทางสรีรวิทยาบางประการ เช่น การเจริญเติบโต และ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงต่อภาวะเค็มของข้าวสายพันธุ์ทนเค็มที่ได้จากประชากร CSSL (Chromosome segment substitution line population) ซึ่งเป็นข้าวที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์จากข้าวพันธุ์ DH212 ซึ่งเป็นข้าว doubled haploid line ที่ทนแล้งซึ่งได้จากการชักนำให้เกิด double haploid ของ pollen ที่ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวทนแล้ง 2 พันธุ์ คือ IR62266 และ CT9993 แล้วนำมาผสมพันธุ์กับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) เพื่อสร้างข้าวสายพันธุ์ทนแล้ง จากนั้นคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีส่วนของโครโมโซมที่มียีนทนแล้ง ณ โครโมโซมต่าง ๆ แล้วผสมกลับยังข้าว KDML 105 เป็นจำนวน 3 ชั่วรุ่น เพื่อให้ได้ข้าว CSSL ที่มี genetic background คล้ายคลึงกับข้าว KDML 105 ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์ทนเค็มปานกลางที่ได้รับความนิยมใน

ประเทศไทย ในกลุ่มประชากร CSSL ดังกล่าว พบว่าข้าวในกลุ่มประชากร CSSL ที่มีส่วนของโครโมโซมที่ 1 มียีนทนแล้งที่อยู่ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย (SSR marker) RM212 และ RM5310 ซึ่งได้จากการศึกษา QTL ของลักษณะการทนแล้งโดยอาศัยลักษณะการให้ผลผลิตเมื่อได้รับภาวะแล้ง (ธีรยุทธ ตู้จินดา และคณะ, 2550)

เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการทนเค็มเบื้องต้นของข้าวในประชากร CSSL ที่มียีนทนแล้งบนโครโมโซมที่ 1 ดังกล่าวข้างต้นพบว่ามีความทนเค็มสูงกว่าข้าว KDML 105 (ธีรยุทธ ตู้จินดา และคณะ, 2555) เมื่อทำการศึกษาเบื้องต้นด้วย co-expression network ของยีนที่มีการแสดงออกในภาวะเครียดทางกายภาพพบว่ามียีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงจำนวนมากที่ถูกกระตุ้นในภาวะดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองทางสรีรวิทยาบางประการ ได้แก่ การเจริญเติบโต และการสังเคราะห์ด้วยแสงต่อภาวะเค็มของข้าวสายพันธุ์ทนเค็มที่ได้จากประชากรของ CSSL ที่มีส่วนของโครโมโซมที่1 และตรวจสอบลักษณะการตอบสนองดังกล่าวกับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ได้จากการทำนายของ co-expression network ของยีนที่อยู่ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย RM212 และ RM5310 ได้แก่ยีน *PsbS1* มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับส่วนรับแสง (Light harvesting complex: LHC) ในระบบแสง2 ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช (Kiss และคณะ, 2008) เพื่อที่จะนำข้อมูลดังกล่าวไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวทนเค็มได้อย่างจำเพาะมากยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการตอบสนองทางสรีรวิทยาบางประการ เช่น การเจริญเติบโต และ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงต่อภาวะเค็มของข้าวสายพันธุ์ทนเค็มที่ได้จากประชากร CSSL (Chromosome segment substitution line population) และตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ ได้แก่ยีน *PsbS1*

ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาการตอบสนองทางสรีรวิทยาบางประการ เช่น การเจริญเติบโต และ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงต่อภาวะเค็มของข้าวสายพันธุ์ทนเค็มที่ได้จากประชากร CSSL (Chromosome segment substitution line population)

2. ศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ ได้แก่ยีน PsbS1

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ให้ทราบถึงการตอบสนองทางสรีรวิทยาต่อภาวะเค็มของข้าวสายพันธุ์ทนเค็มที่ได้จากประชากรของ CSSL ที่มีส่วนของโครโมโซมที่1 และข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ข้าวทนเค็มที่ได้จากประชากรของ CSSLที่เกิดจากยีนที่อยู่ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย (SSR marker) RM212 และ RM5310