บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

1. ดินเค็มและปัญหาดินเค็ม

พื้นที่ดินเค็มทั่วโลกมีมากกว่า 800 ล้านเฮกแตร์ (hectares) มีกระจัดกระจายไปไปในหลายพื้นที่ คิดเป็น 6% ของพื้นที่โลกทั้งหมด เกิดจากการสะสมเกลือเป็นระยะเวลานานในเขตพื้นที่แห้งแล้ง (arid) และกึ่งแห้งแล้ง (semi-arid) ทั่วโลก (Rengasamy 2002) โดยส่งผลกระทบกับพื้นที่เกษตรที่แห้งแล้งร้อยละ 2.1 และพื้นที่การเกษตรทั่วโลกที่มีชลประทานร้อยละ 30 (FAO 2014) ดินเค็ม (saline soil) คือดินที่มีปริมาณเกลือที่ละลายอยู่ในสารละลายดินมากเกินไปจนมีผลกระทบต่อพืชหลายๆทางเช่น พืชมีอาการขาดน้ำ มีการสะสมออนทีเป็นพิษภายในต้นมากเกินไป ไม่เกิดความสมดุลของธาตุอาหารภายในต้นพืชอักด้วย ส่งผลไปถึงให้พืชเกิด oxidative stress ทำให้พืชมีการแบ่ง และขยายขนาดเซลล์ที่ลดน้อยลงนำไปสู่การเจริญเติบโตของพืชอีกทั้งยังทำให้ผลผลิตของพืชลดลงอย่างชัดเจน (Hasegawa และคณะ 2000, Munns 2002a, สมศรี อรุณินท์ 2539) สำหรับไอออนของเกลือที่พบในดินเค็มได้แก่ ไอออนบวกของโซเดียม (Na^+) แมกนีเซียม (Mg^{2+}) แคลเซียม (Ca^{2+}) และ ไอออนลบของไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) คลอไรด์ (Cl^-) ไนเตรต (NO_3^-) และซัลเฟต (SO_4^{2-}) (Bernstein 1975) การเพิ่มขึ้นของไอออนเกลือโดยเฉพาะเกลือโซเดียมคลอไรด์ ซึ่งเป็นเกลือที่สามารถละลายน้ำและอยู่ในดินมากที่สุดทำให้ในดินมีค่า osmotic potential ลดลง เป็นสาเหตุที่ทำให้รากพืชไม่สามรถดูดน้ำจากดินเข้าไปได้ การขาดน้ำในลักษณะดังกล่าวมีความคล้ายคลึงกับการขาดน้ำในภาวะแล้ง (Bohnert และ Jensen 1996) และมีการรายงานว่า ดินเค็มเป็นดินที่มีค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดิน (Electrical conductivity; EC) มากกว่า 4 dS/m (1 dS/m มีค่าความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ประมาณ 10 mM) (USDA-ARS 2013) สำหรับปัญหาดินและสาเหตุการแพร่กระจายของดินเค็มเกิดจากสาเหตุหลักคือ เกิดโดยธรรมชาติ และเกิดโดยการกระทำของมนุษย์ สำหรับสาเหตุจากธรรมชาติเช่น การสลายตัวของหินอมเกลือ การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำใต้ดินทำให้เกลือขึ้นมาสะสมบริเวณผิวดินมากขึ้น การสะสมของเกลือที่ละลายน้ำได้ (soluble salts) ในดิน รวมไปถึงการระเหยและการคายน้ำของพืช (evapotranspiration) และการระเหยของน้ำของดิน สาเหตุจากการกระทำของมนุษย์นั้น ได้แก่ การทำเกลือสินเธาว์ การตัดไม้ทำลายป่า (deforestation) การทำการเกษตรโดยใช้น้ำชลประทานอย่างไม่ถูกต้อง การไม่ปลูกพืชคลุมดิน เป็นต้น (Dajic 2006) ปัญหาดินเค็มก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและพืชการเกษตร จากการทดลองของ Zeng และ Shannon (2000a) พบว่าเมื่อมีค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดิน 6.65 ds/m ผลผลิตข้าวลดลงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้พืชหลายๆ ชนิดมีตอบสนองต่อภาวะเค็มที่แตกต่างกันและมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันด้วย ปัญหานี้เกิดขึ้นในพืชเศรษฐกิจที่ได้รับผลกระทบจากภาวะเค็มด้วยเช่น ข้าว ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี และข้าวโพด เป็นต้น (Sairam และ Tyagi 2004) ปัญหาดินเค็มในประเทศไทยพบได้ในหลายพื้นที่ เช่นในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ บริเวณพื้นที่

ชายทะเล และในภาคกลาง มีสาเหตุจากแหล่งเกลือที่ต่างกัน และชนิดเกลือที่พบต่างกัน ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบว่ามีพื้นที่ดินแพร่กระจัดกระจายไปในเกือบทุกจังหวัดคิดเป็นพื้นที่ทั้งหมด 17.8 ล้านไร่ หรือประมาณร้อยละ 17 ของพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือทั้งหมด ซึ่งจัดเป็นพื้นที่ดินเค็มจัด 1.5 ล้านไร่ พื้นที่ดินเค็มปานกลาง 3.7 ล้านไร่ และพื้นที่ดินเค็มน้อย 12.6 ล้านไร่ และเกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือต้องประสบปัญหาดินเค็มเฉลี่ย 2.6 ไร่ต่อครัวเรือน ซึ่งพื้นที่ดินเค็มปานกลางและเค็มน้อยส่วนใหญ่เป็นนาข้าวดังนั้นต้นข้าวจึงมีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน (เกษม ศรี ซับซ้อน 2541, พิชัย วิชัยดิษฐ์ 2540, สมศรี อรุณินท์ 2532) ทั้งนี้ปัญหาดินเค็มมีผลกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศไทยอย่างยิ่ง โดยเฉพาะบริเวณทุ่งกุลาร้องไห้ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเป็นที่ราบขนาดใหญ่ประมาณ 2 ล้านไร่ ครอบคลุมพื้นที่หลายจังหวัด มีสภาพดินเค็มเป็นส่วนใหญ่ และเกษตรกรใช้เป็นพื้นที่ทำนาโดยปลูกข้าวหลายพันธุ์ที่เป็นพันธุ์แนะนำส่งเสริม เช่น กข.1 กข.6 กข. 7 กข.8 กข.15 และขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) เป็นต้น ทั้งนี้ข้าวพันธุ์ KDML105 เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย แต่พื้นที่บริเวณดังกล่าวให้ผลผลิตข้าวโดยเฉลี่ยต่อปีต่ำ (กรมการค้าต่างประเทศ 2553)

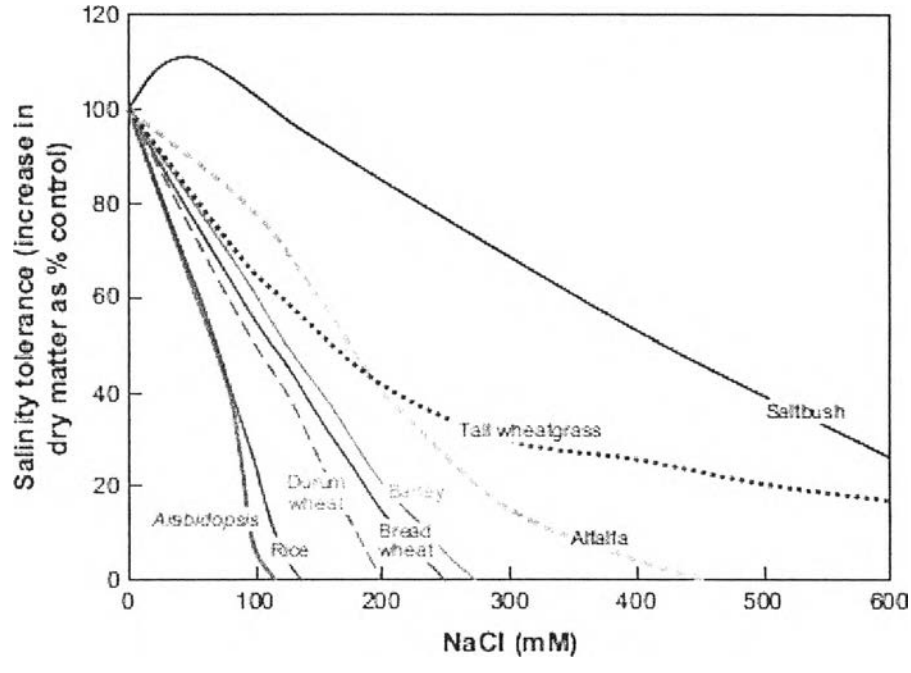
2. การตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืชเมื่ออยู่ภายใต้ภาวะเครียดจากความเค็ม

ภาวะดินเค็มเป็นปัญหาที่สำคัญที่สุดของพื้นที่การทำการเกษตรแบบชลประทาน ทำให้พืชที่มีการเจริญเติบโตในพื้นที่ดินเค็มเกิดภาวะเครียดจากการขาดน้ำ (water stress) และเมื่อได้รับภาวะเค็มที่ยาวนานขึ้นพืชเกิดภาวะเครียดที่เกิดจากไอออนของเกลือ (ionic stress) โดยส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืช ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตช้าลง ในข้าวมีจำนวนกอลดลง นำไปสู่การลดลงของผลผลิต การสะสมไอออนของเกลือปริมาณมากส่งผลให้ภายในต้นพืชเกิดความเป็นพิษ และเป็นอันตรายต่อพืช อีกทั้งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ต่างๆ (Zhu 2001, Zhu 2002) ในพืช รวมถึงค่าความศักย์ของน้ำ (water potentials) ในพืชลดลง การไม่สมดุลของไอออนภาย (ionic imblances) ในต้นพืช และการสะสมไอออนที่เป็นพิษ (ion toxicity) ต่อพืช (Abdullah และคณะ 2002, Munns และ Tester 2008, Tester และ Davenport 2003) จากการรายงานของ Rodrigues และคณะ (2003) พบว่าการตอบสนองและการปรับตัวของพืชต่อภาวะเค็มนั้นมีความแตกต่างกันตามชนิดพืช พันธุ์พืช และระยะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันของพืช เช่น ในข้าว (*Oryza sativa*) เป็นพืชที่ไม่ทนเค็มมากที่สุด ข้าวบาร์เล่ย์ (*Hordeum vulgare*) เป็นพืชที่ทนเค็มมากที่สุด ข้าวสาลี (*Triticum aestivum*) เป็นพืชที่ไม่ทนเค็มปานกลาง (ภาพที่ 1) สำหรับการตอบสนองของพืชต่อภาวะเค็มในช่วงแรก เซลล์พืชมีการสูญเสียน้ำและเกิดการหดตัว และสามารถฟื้นตัวได้ในเวลาต่อมา ถึงแม้ว่ามีการฟื้นตัวได้แต่การยืดตัวของเซลล์และการแบ่งเซลล์ ยังคงลดลงอย่างต่อเนื่องเป็นผลทำให้มีการเจริญของใบและรากลดลง แต่หากพืชได้รับภาวะเค็มเป็นเวลานานหลายสัปดาห์มีผลต่อการพัฒนารากพืช และสามารถเห็นอาการบาดเจ็บที่เกิดจากเกลือได้ เช่นใบไหม้ (Lauchli และ Grattan 2007) จากรายงานของ Munns (2002a) สามารถแบ่งระยะการตอบสนองต่อความเค็มของพืชได้ 2 ระยะ (ภาพที่ 2) ดังนี้ ระยะที่ 1 พืชมีการเจริญเติบโตลดลงอย่างรวดเร็ว

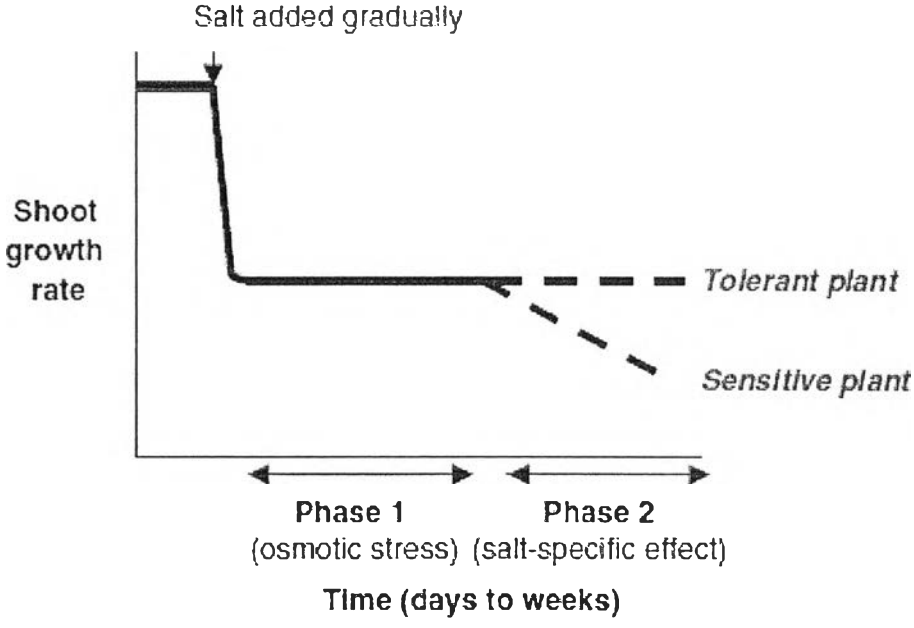
หลังจากได้รับความเค็ม ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของค่า osmotic บริเวณรอบรากเป็นสาเหตุให้มีการเปลี่ยนแปลงความสัมพันธ์ของน้ำในเซลล์ตามไปด้วย ค่า osmotic ที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้รากพืชมีความสามารถในการดูดน้ำได้น้อยลง การพัฒนาหรือการสร้างใบใหม่ข้าลง ในข้าวพบว่ามีพื้นที่ใบ ความกว้างใบ จำนวนใบ และจำนวนกอลดลง มีลักษณะคล้ายกับภาวะ water stress ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความแตกต่างกันของชนิดของพืช และเมื่อเวลาผ่านไปใบพืช และการเจริญเติบโตของพืชเริ่มฟื้นตัวอย่างช้าๆ จนคงที่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเกลือที่อยู่บริเวณรอบๆ รากพืช ระยะที่ 2 คือพืชได้รับภาวะเค็มเป็นระยะเวลานานเกินสัปดาห์ การตอบสนองของพืชในระยะนี้เกิดจากการสะสมไอออนที่เป็นพิษของเกลือในใบแก่หรือใบที่แผ่เต็มที่แล้ว ในระยะนี้ผลของความเค็มที่เกิดขึ้นเกิดเฉพาะตำแหน่ง และหลังจากนั้นใบพืชแห้งตาย ทำให้ลดพื้นที่ใบในการสังเคราะห์ด้วยแสง หากอัตราใบพืชที่ตายมีจำนวนมากกว่าใบพืชที่เกิดขึ้นใหม่ อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของต้นพืชนั้นอาจไม่เพียงพอต่อความต้องการคาร์โบไฮเดรตในใบใหม่จึงทำให้ใบพืช และต้นพืชมีการเจริญเติบโตลดน้อยลง ทั้งนี้ใบพืชที่ได้รับความเสียหายและใบพืชที่ตาย อาจเกิดจากการที่ภายในแวคิวโอล (vacuole) ของเซลล์พืชมีการสะสมไอออนเกลือที่เป็นพิษ เช่น Na^+ ในปริมาณที่มากเกินไป ทำให้ในไซโทพลาสซึม (cytoplasm) มีการสะสมของเกลือไอออนในปริมาณที่เป็นพิษ (Munns 2002b, Munns 2005, Munns และคณะ 2006, Munns และ Termaat 1986) พืชที่สามรถอยู่รอดในภาวะเค็มอาจตัดสินจากอัตราเกิดตายของใบแก่และการเกิดใหม่ของใบพืช หากใบพืชที่เกิดขึ้นใหม่มากกว่าการตายของใบแก่พืช ใบยังคงมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงที่มากพอที่จะทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตต่อไปจนถึงระยะออกดอกได้ สำหรับในพืชไม่ทนเค็มหรืออ่อนแอต่อความเค็มไม่มีความสามรถในการควบคุมการขนส่งของ Na^+ เข้าหรือออกภายในเซลล์ได้

พืชมีการปรับกลไกลทางด้านชีวเคมีเพื่อต้านทานต่อภาวะเค็ม (ภาพที่ 3) เช่น การเลือกสะสมของไอออน ควบคุมการดูดไอออนโดยรากและการส่งผ่านไอออนในใบพืช การแบ่งไอออนภายในเซลล์หรือภายในต้นพืชทั้งหมด การสังเคราะห์สารละลายโดยสะสมสารจำพวก osmoprotectant เช่น น้ำตาล (sugar) แอลกอฮอล์ (alcohol) โพรลีน (proline) เอกโทนีน (Ectoine) (Lin และคณะ 2002, Lippert และ Galinski 1992, Singh และคณะ 2000) เพื่อลดค่าศักย์ของน้ำ (water potential) ในเซลล์ ทำให้รากพืชมีความสามารถในการดูดน้ำมากขึ้น (Nuccio และคณะ 1999, Weinberg และ Shannon 1998) มีการเปลี่ยนแปลงการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเซลล์เมมเบรน มีการสังเคราะห์เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidance) มีการชักนำให้เกิดการสร้างฮอร์โมนในปริมาณเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น กรดแอบไซซิก (Abscisic acid; ABA) และไซโทไคนิน (cytokinins) (Aldesuquy 1998, Thomas และคณะ 1992, Vaidyanathan และคณะ 1999) ซึ่งฮอร์โมน ABA จะลดการทำลายของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช และการเจริญเติบโต (Popova และคณะ 1995) รวมถึงไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการทนเค็ม โดยฮอร์โมน ABA จะเป็นตัวส่งสัญญาณ (signal transduction) (Davies และคณะ 2005, Parida และ Das 2005) นอกจากนี้พืชทนเค็มบางชนิดมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพโดยการสร้างสารเคลือบผิวใบ เช่น แวกซ์ (wax) ทำให้ใบใหม่ที่เกิดมาหนาขึ้น หรือในมะเขือเทศ มีการลดพื้นที่ใบ และลดความหนาแน่นของ

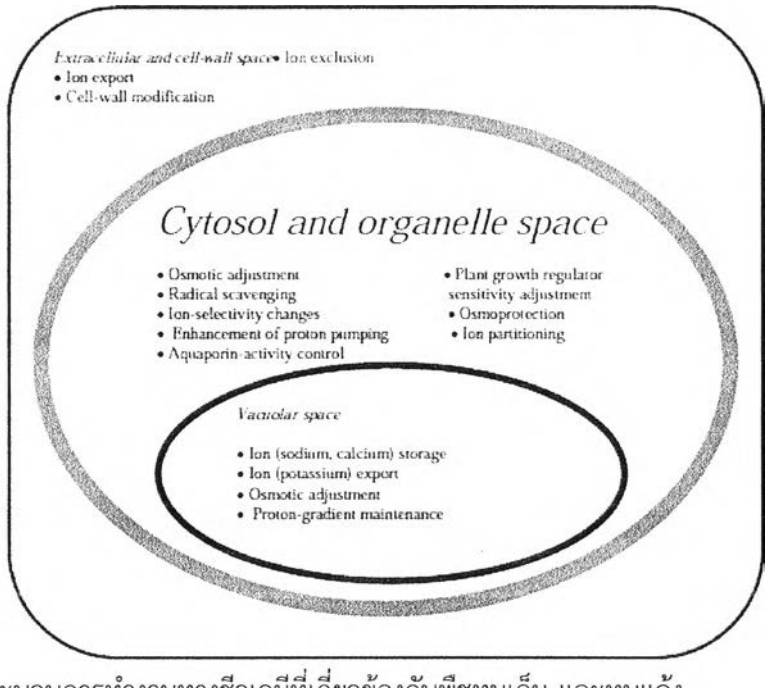
ปากใบพื่อลดการสูญเสียน้ำ (Kosma และคณะ 2009, Romeroaranda และคณะ 2001) ทั้งนี้ Flowers และคณะ (1997) ได้ทำการจัดกลุ่มพืชตามความสามารถในการทนเค็มโดยจำแนกได้ 2 กลุ่ม คือ พืชทนเค็ม (halophyte) คือพืชที่มีการเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ที่มีความเค็มสูง เช่น พืชที่อยู่ในวงศ์ Tamaricaceae Zygophyllaceae Potamogetonaceae Rhizophoraceae และ Frankeniaceae เป็นต้น และ พืชไม่ทนเค็ม (non-halophyte หรือ glycophyte) คือพืชที่แสดงอาการผิดปกติและมีการเจริญเติบโตที่ลดลงเนื่องจากในพื้นที่นั้นมีเกลือสูงกว่า 0.01 เปอร์เซ็นต์ เช่น พืชในวงศ์ Rosaceae Araceae Ericaceae และ Orchidaceae เป็นต้น (Flowers และ Yeo 1998, Glenn และคณะ 1999)



ภาพที่ 1 การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งในพืชทนเค็มหลายชนิดที่ปลูกในสารละลายเกลือ และในทรายที่มีสารละลายเกลือ เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 อาทิตย์ (Munns และ Tester 2008)



ภาพที่ 2 ลักษณะการตอบสนองต่อการเจริญเติบโตของพืช 2 ระยะ ในพืชที่มีลักษณะทนเค็มและไม่ทนเค็ม ในระดับเกลือที่เป็นพิษในใบ (Munns 2005)



ภาพที่ 3 กระบวนการทำงานทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับพืชทนเค็ม และทนแล้ง (Bohnert และ Jensen 1996)

2.1 การเจริญเติบโตของพืชภายใต้ภาวะเค็ม

การเพิ่มขึ้นของความเค็มในดินในระยะแรกส่งผลให้การเจริญเติบโตของใบและพื้นที่ใบลดลง เนื่องจากค่า osmotic บริเวณรอบรากเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วทำให้รากพืชดูดน้ำได้ในปริมาณที่ลดลง ทำให้เซลล์ของใบพืชมีการสูญเสียน้ำเช่น ในถั่วเหลือง *Glycine max* L. พันธุ์ SJ.5 มีพื้นที่ใบลดลงจากภาวะปกติ 40 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับความเค็มระดับ 80 mM NaCl เป็นเวลา 10 วัน (อัญชลี ใจดี 2543) อีกทั้งพืชมีการการสูญเสียแรงดันเต่ง (turgor) ของเซลล์ และอัตราการยืดตัวของเซลล์มีค่าลดลง (Fricke และ Peters 2002, Passioura และ Munns 2000) และมีการพัฒนาให้ใบพืชมีขนาดเล็กและหนาขึ้น สำหรับพืชที่ได้รับภาวะเค็มรุนแรงปานกลางพืชมีการยับยั้งการเจริญเติบโตทางลำต้น (vegetative stage) ส่งผลต่อการพัฒนาในระยะสืบพันธุ์ (reproductive stage) จนถึงระยะออกดอก (flowering stage) ซึ่งภาวะเค็มนั้นส่งผลต่อการลดลงของน้ำหนักสดและแห้งของต้นเป็นอย่างมาก (Chartzoulakis และ Klapaki 2000, Hernandez และคณะ 1995) การเจริญเติบโตของใบพืชที่ลดลงอาจเกิดจากสัญญาณของฮอร์โมนภายในต้นพืช การขาดธาตุอาหาร และการสะสมไอออนที่เป็นพิษในพืชอีกด้วย (Hu และคณะ 2007) ในสตรอเบอร์รี *Fragaria* × *ananassa* Duch. พันธุ์ Korona ที่ได้รับภาวะเค็มระดับ 40 และ 80 mM NaCl มีพื้นที่ใบลดลงประมาณ 50 และ 72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับภาวะปกติ (Keutgen และ Pawelzik 2009) จากการรายงานของ Kurban และคณะ (1999) ในถั่วพันธุ์ *Alhagi pseudoalhagi* พบว่าเมื่อได้รับเกลือที่ความเข้มข้น 100 และ 200 mM NaCl น้ำหนักสดต้นลดลง ในมะเขือเทศ และต้นฝ้าย พบว่าน้ำหนักสดต้น น้ำหนักสดราก ความสูง จำนวนใบต่อต้น และความยาวรากลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้น (Meloni และคณะ 2001, Mohammad และคณะ 1998) และในแตงกวา *Cucumis sativus* L. พันธุ์ Pepinex พบว่าหลังจากได้รับความเค็มตั้งแต่ 25 mM NaCl เป็นเวลา 22 วัน พื้นที่ใบลดลง 25 เปอร์เซ็นต์ (Chartzoulakis 1994) การทดลองของ Shereen และคณะ (2007) พบว่าน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นและรากในข้าวทุกสายพันธุ์ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อได้รับภาวะเค็มที่ 50-75 mM NaCl ผลของความเค็มทำให้ข้าวมีจำนวนกอ จำนวนรวง น้ำหนักเมล็ดลดลง (Khatun และ Flowers 1995, Lutts และคณะ 1995) นอกจากนี้มีรายงานการวิจัยในพืชอื่นๆ ที่ชี้ให้เห็นผลของความเค็มต่อพืชในระยะ ต้นกล้า (seedling stage) และในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น ที่ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตลดลง เช่นในข้าวโพด ข้าวฟ่าง และข้าวสาลี (Maas และคณะ 1986) เมลอน (Botia และคณะ 2005) ผักปวยเล้งนิวซีแลนด์ และผักสลัดชนิด red orach (Wilson และคณะ 2000) และ ถั่วลันเตา (Maas และ Poss 1989) และความเค็มทำให้ข้าวมีการเกิดของใบใหม่ อัตราการเติบโตของเมล็ดข้าว และน้ำหนักแห้งลดลงอย่างชัดเจน (Sultana และคณะ 1999) ซึ่งให้ผลคล้ายกับงานวิจัยของ Jurgens และคณะ (1978) ที่ทำการทดลองในข้าวโพด ทั้งนี้การได้รับภาวะเค็มพืชจะแสดงอาการเช่นเดียวกับเมื่อเกิดความเครียดจากภาวะแล้ง (drought stress) ฮอร์โมน ABA มีบทบาทสำคัญในรากและต้น และมีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ ภายใต้ภาวะเครียดที่เกิดจากภัยแล้ง และความเค็ม รวมไปถึงมีผลต่อการควบคุมการเจริญเติบโต และการชักนำการเปิดปากใบ (stomatal conductance) การทดลองในข้าวบาร์เล่ย์ที่ได้รับภาวะเค็ม พบว่าปริมาณฮอร์โมน ABA เพิ่มสูงขึ้น และลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ในขณะที่ใบพืชยังคงมีอัตรา

การเจริญเติบโตลดลง ทั้งนี้ฮอร์โมน ABA ไปยับยั้งการทำงานของฮอร์โมน Gibberellins (GAs) (Fricke และคณะ 2004)

2.2 การตอบสนองต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชในภาวะเค็ม

ภาวะดินเค็มส่งผลให้พืชเกิดการการตอบสนองต่อปากใบอย่างรวดเร็ว โดยเกิดจากผลของ osmotic stress บริเวณรอบๆ ราก และเกี่ยวเนื่องกับความสัมพันธ์ระหว่างน้ำและการสังเคราะห์ฮอร์โมน ABA ในพืช ซึ่งฮอร์โมน ABA พบได้ในเนื้อเยื่อพืชที่มีการสังเคราะห์ด้วยแสง(Fricke และคณะ 2004) ทั้งนี้ภาวะดินเค็มส่งผลให้มีปริมาณฮอร์โมน ABA เพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้พืชมีการปิดปากใบ ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งของพืชที่ลดการสูญเสียน้ำเมื่อพืชเกิดความเครียดจากภาวะขาดน้ำ เช่น การปิดปากใบ (Berry และ Dowton 1982) Sibole และคณะ (1998) ศึกษาในถั่ว *Phaseolus vulgaris* L. ที่ได้รับภาวะเค็มระดับ 25 และ 50 mM Nacl เป็นเวลา 13 วัน พบว่ามีการลดลงของการชักนำการเปิดปากใบ การสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชภายใต้ภาวะเค็มในขณะเดียวกันอัตราการคายน้ำในพืชลดน้อยลงเพื่อรักษาน้ำภายในต้น เพื่อนำไปใช้ในการรักษาสมดุลของแรงดันในเซลล์พืช (Termaat และคณะ 1985) การปิดปากใบของพืชเป็นการตอบสนองต่อค่า turgor pressure ที่ลดลง นอกจากนี้พืชมีการลดการแพร่ของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ผ่านทางปากใบ และส่งผลให้มีการแพร่ของก๊าซ CO_2 ผ่านทาง mesophyll ลดน้อยลงอีกด้วย รายงานของ Jones (1973) แสดงให้เห็นว่าเมื่อพืชอยู่ในภาวะขาดน้ำพืชมีการแพร่ของก๊าซ CO_2 ในชั้น mesophyll cell ลดลง การแพร่ของก๊าซ CO_2 บริเวณปากใบมีผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง ทั้งนี้ ความเค็มทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง นำไปสู่การลดลงของการเจริญเติบโตของพืชเนื่องจากการขยายตัวของแผ่นใบลดลง (Fricke และคณะ 2004) ทั้งนี้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชยังขึ้นอยู่กับพื้นที่ใบ และปริมาณของคลอโรฟิลล์อีกด้วย ในพืชบางชนิดที่เจริญเติบโตอยู่ในความเข้มข้นของเกลือต่ำอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชไม่เปลี่ยนแปลง (Rajesh และคณะ 1998) เช่นในพืช *Alhaji pseudoalhagi* ที่อยู่ในภาวะเค็ม 100 mM NaCl มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงไม่เปลี่ยนแปลง ในขณะที่ถั่วอยู่ในภาวะเค็ม 200 mM NaCl มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลงไป ประมาณ 60% ซึ่งค่าการชักนำการเปิดของปากใบพืชให้ผลสอดคล้องกับอัตราการการสังเคราะห์ด้วยแสง (Kurban และคณะ 1999) ในหม่อนที่พบว่า ค่าอัตราการการสังเคราะห์ด้วยแสง ค่าการชักนำการเปิดของปากใบ และอัตราการคายน้ำ ลดลงเมื่ออยู่ในภาวะเค็ม (Agastian และคณะ 2000) จากรายงานของ Yeo และคณะ (1985) พบว่า การยับยั้งอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงในข้าวที่อยู่ในภาวะความเค็มเกิดจากการขาดน้ำในเซลล์ใบเนื่องจากการสะสมของเกลือใน apoplast และจากการศึกษาของ Sultana และคณะ (1999) ในข้าวแสดงให้เห็นถึงการลดลงของการสังเคราะห์รงควัตถุ น้ำตาล และปริมาณของโปรตีนในใบ เมื่อได้รับภาวะเค็มเป็นระยะเวลานาน ทั้งนี้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชที่ลดน้อยลงเกิดจากปัจจัยหลายประการ เช่น การสูญเสียน้ำของเซลล์เมมเบรน การลดลงของก๊าซ CO_2 เนื่องจากการปิดของปากใบ และความเป็นพิษของเกลือ ผลของความเค็มทำให้เพิ่มการเสื่อมของพืช การเปลี่ยนแปลงการทำงานในไซโตพาสซึม (cytoplasm) (Iyengar และ Reddy 1996) มากไปกว่า

นั้นการสะสมไอออนของเกลือที่เกิดจากภาวะเค็มยังส่งผลต่อการทำลายหรือลดลงของคลอโรฟิลล์ในใบพืช โดยการทำลายของเอนไซม์ chlorophyllase ทั้งนี้ (Reddy และ Vora 1986, Yeo และ Flowers 1983) อย่างไรก็ตามกระบวนการย่อยสลายคลอโรฟิลล์สามารถเปลี่ยนรูปจากคลอโรฟิลล์บีเป็นคลอโรฟิลล์เอ จึงทำให้คลอโรฟิลล์เอที่มีส่วนสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชเพิ่มสูงขึ้น (Eckardt 2009) โดยพืชที่มีลักษณะทนเค็มจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่พืชที่ไม่ทนเค็มจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ลดน้อยลงเมื่ออยู่ในภาวะเค็ม (Khan และคณะ 2009) ซึ่งการสะสมปริมาณของคลอโรฟิลล์เป็นตัวชี้วัดการทนเค็มของพืชชนิดต่างๆ เช่นในข้าวสาลี ถั่ว และเมลอน เป็นต้น (Arfan และคณะ 2007, Noreen และคณะ 2010, Romero และคณะ 1997) สำหรับ carotenoids มีความสำคัญต่อกระบวนการ photoprotection ซึ่งภายใต้ภาวะเค็ม β-carotenoids และการก่อตัวของ zeaxanthins จะถูกสลาย (Sharma และ Hall 1991) เป็นที่ทราบกันว่าความเครียดจากเกลือมีผลยับยั้งการสังเคราะห์ด้วยแสงโดยการลดค่าศักย์ของน้ำ (water potential) ดังนั้นพืชที่มีลักษณะทนเค็มจะมีการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้น้ำ (water use efficiency) ภายใต้ภาวะเค็มเพิ่มมากขึ้น โดยพืชจะเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชและลดอัตราการคายน้ำ (Tuong และ Bouman 2003) ทั้งนี้ปากใบพืชมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงและลดอัตราการคายน้ำที่แสดงให้เห็นถึงการใช้น้ำอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งการปิดของปากใบพืชอย่างรวดเร็วในภาวะเค็มจะช่วยให้พืชประหยัดพลังงาน รวมไปถึงการใช้น้ำอย่างมีประสิทธิภาพ (Grantz และ Assmann 1991) และส่งผลต่อผลผลิตที่เพิ่มสูงขึ้น (Blum 2005)

3. ข้าวประชากร CSSL (Chromosomal Segment Substitution Lines)

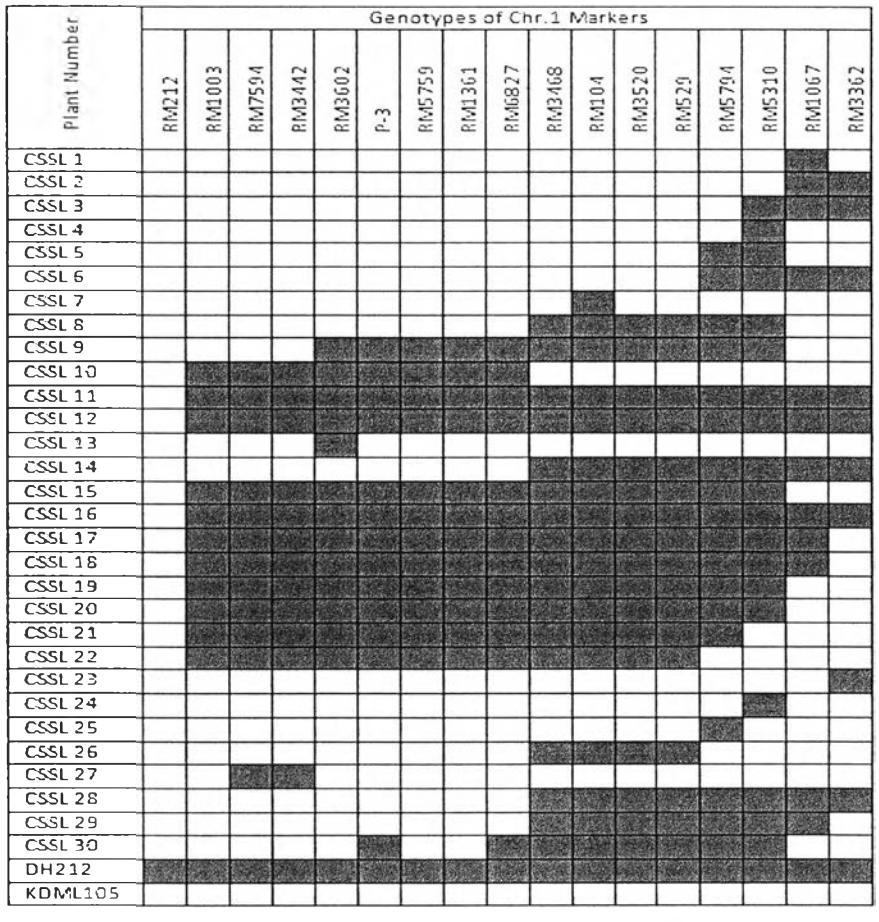
ข้าวประชากร CSSL (Chromosome Segment Substitution Line Population) เป็นข้าวที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์จากข้าวพันธุ์ DH212 ซึ่งเป็นข้าว double haploid line มีลักษณะทนแล้งซึ่งได้จากการชักนำให้เกิด doubled haploid ของเรณู (pollen) ที่ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวทนแล้ง 2 พันธุ์ คือ IR62266 เป็นข้าวที่มีความสามรถในการปรับค่า osmotic ได้ดี และ CT9993 เป็นข้าวที่มีระบบรากดีต่อการทนแล้ง (ตารางที่ 1) การคัดเลือกทางพันธุกรรมนี้เป็นการคัดเลือกจากส่วนของโครโมโซมที่มียีนที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการ (Quantitative trait loci; QTLs) (Babu และคณะ 2004, Stuber 1995) แล้วนำมาผสมพันธุ์กับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) เพื่อสร้างข้าวสายพันธุ์ทนแล้ง เนื่องจากข้าวชนิดนี้มีลักษณะการหุงต้มที่ดี มีกลิ่นหอมและเมล็ดอ่อนนุ่ม แต่มีลักษณะทนเค็ม และทนแล้งปานกลาง ได้รับความนิยมปลูกทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยซึ่งมีลักษณะพื้นที่ที่มีความเค็ม และแห้งแล้ง เมื่อนำข้าวพันธุ์ KDML105 ไปปลูกบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยทำให้ข้าวมีผลผลิตลดลง ดังนั้นจึงนำข้าวที่มีลักษณะทนแล้ง (DH212) ดังกล่าวที่มีการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีส่วนของโครโมโซมที่มียีนทนแล้ง ณ โครโมโซมต่าง ๆ มาผสมกลับ (backcross) ไปยังข้าว KDML 105 เป็นจำนวน 5 ชั่วรุ่น (ภาพที่ 5) โดยแต่ละครั้งในการผสมกลับ มีการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีพันธุกรรมทนแล้งโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย (marker-assisted selection; MAS) ต่างๆ กันในแต่ละครั้ง (Siangliw และ

คณะ 2007) หลังจากนั้นนำรุ่นที่เป็น BC3F1 มาทำการปลูกต่อให้ผสมตัวเองจนได้ประชากรของลูกผสมกลับครั้งที่ 2 ชั่วที่ 2 (BC3F2) และปลูกให้ผสมตัวเองต่อจนได้ลูกผสมกลับครั้งที่ 2 จนได้เป็น BC3F3 จำนวน 103 สายพันธุ์ ที่มีลักษณะพันธุ์แท้นำมาใช้ในการทดลองต่อไป ดังนั้นข้าวประชากร CSSL มีลักษณะฐานพันธุกรรม (genetic background) คล้ายคลึงกับข้าวพันธุ์ KDML 105 มากถึง 96.3% (Toojinda และคณะ 2011) จากการรายงานของ Gong และคณะ (1999); Koyama และคณะ (2001); Lee และคณะ (2007) พบว่าประชากรข้าวที่รับการถ่ายทอดลักษณะทนเค็ม มีลักษณะที่ถูกควบคุมโดยยีน (salt tolerant QTLs) บนโครโมโซม 1, 3, 5, 6 และ 7 อย่างไรก็ตาม นักวิจัยได้ศึกษาลักษณะการถ่ายทอดความทนเค็มในข้าว พบว่า ยีนหลักอยู่บนโครโมโซม 1 (Gregorio และคณะ 1997) สำหรับการเลือกประชากรข้าว CSSL ดังกล่าว พบว่าข้าวในกลุ่มประชากร CSSL ที่มีส่วนของโครโมโซมที่ 1 มียีนทนแล้งที่อยู่ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย (SSR marker) RM212 และ RM3362 ซึ่งได้จากการศึกษา QTL ของลักษณะการทนแล้งโดยอาศัยลักษณะการให้ผลผลิตเมื่อได้รับภาวะแล้ง (Toojinda และคณะ 2011) ตัวอย่างการแทนที่ชิ้นส่วนของโครโมโซมที่ 1 ที่มียีนทนแล้งจากข้าวพันธุ์ DH212 ลงในข้าวพันธุ์ KDML105 ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย RM1003 และ RM3362 (ภาพที่ 4)

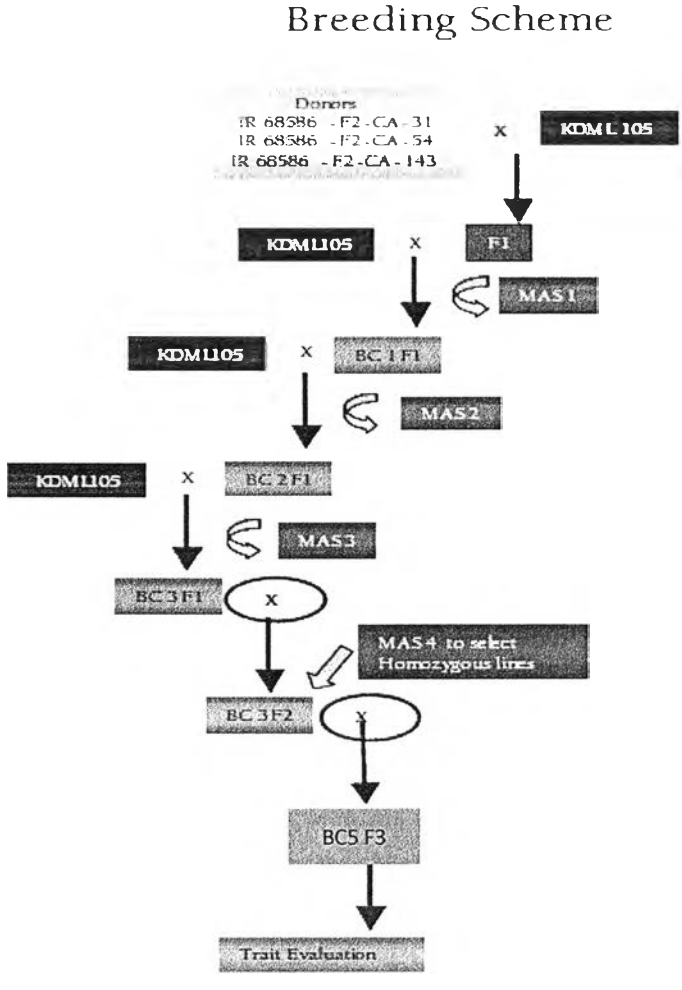
Cultivar names	Information
KDML105	Use as recipient background in developing of CSSLs. reported as susceptible variety to drought and salt stresses by Rice Department
CT9993	Parental variety of mapping population used for identification of QTL for drought tolerance
IR62266	Parental variety of mapping population used for identification of QTL for drought tolerance
DHL103	Donor variety used in development of CSSLs
DHL212	Donor variety used in development of CSSLs
IR29	Standard check for salt intolerance
Pokkali	Standard check for salt tolerance
FL496	Donor variety used in development of salinity tolerance in breeding program
FL530	Donor variety used in development of salinity tolerance in breeding program

ตารางที่ 1 พันธุ์ข้าวมาตรฐาน 9 พันธุ์ข้าวที่นำมาใช้ในการตรวจสอบในภาวะเค็ม

(Kanjoo และคณะ 2011)



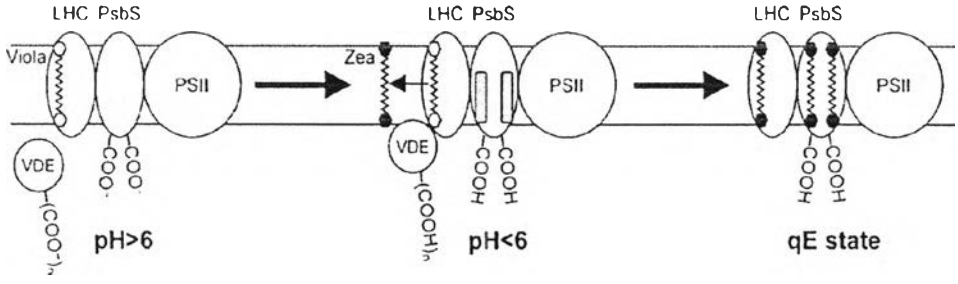
ภาพที่ 4 การแทนที่ชิ้นส่วนของโครโมโซมที่ 1 ที่มียีนทนแล้งจากข้าวพันธุ์ DH212 ลงในข้าวพันธุ์ KDML105 ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย RM1003 และRM5310 ในข้าวประชากร CSSL



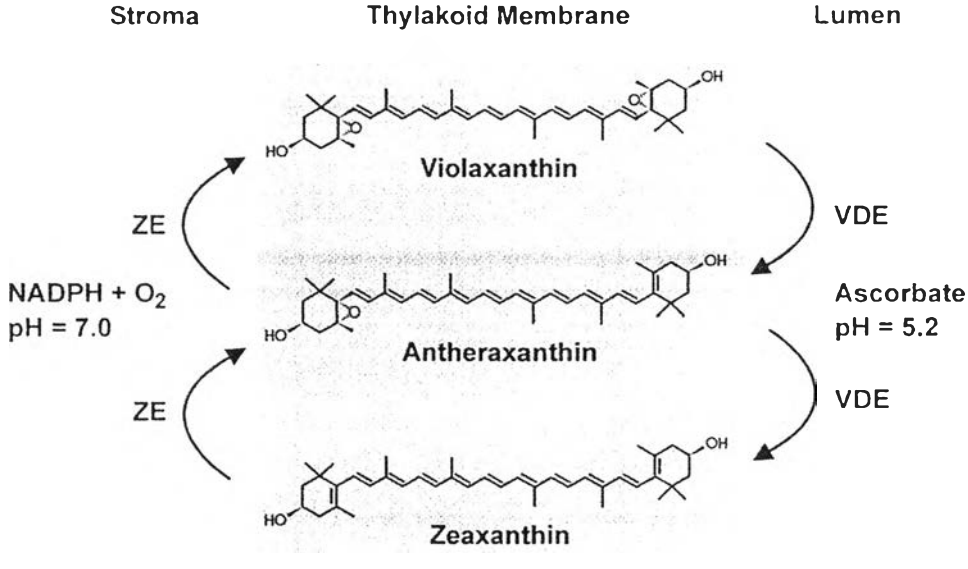
ภาพที่ 5 การปรับปรุงและพันธุ์พัฒนาข้าวโดยใช้ข้าวพันธุ์ KDML105 ในการผสมกลับ (backcross) และใช้โมเลกุลเครื่องหมาย (marker-assisted selection; MAS) ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีพันธุกรรมทนแล้ง โดย IR68586-F2-CA-31 (DHL103) และIR68586-F2-CA-143 (DHL212) (Siangliw และคณะ 2007)

เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการทนเค็มเบื้องต้นของข้าวในประชากร CSSL ที่มียีนทนแล้งบนโครโมโซมที่ 1 ข้างต้นพบว่ามีความทนเค็มสูงกว่าข้าวพันธุ์ KDML 105 (ธีรยุทธ ตู้จินดา และคณะ 2555) และจากการศึกษาของ นพวิชญพงศ์ เครือสาร และคณะ (2556) ได้ทำการศึกษาเบื้องต้นของการสร้างเครือข่ายการแสดงออกร่วมของยีน (gene co-expression network; GCN) ที่อยู่ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย RM1003 และ RM5310 บนโครโมโซมที่ 1 ในข้าว (*Oryza sativa* L.) ที่มีการแสดงออกในฐานข้อมูลไมโครอะเรย์ (microarray) ของข้าวในภาวะเครียดทางกายภาพ พบว่ามี 9 ยีนหลักที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อความเครียดจากความเค็ม โดยมีโหนดยีนเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ด้วยแสงคือ *LOC_Os01g64960 (Psbs1)* ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการสร้าง

chlorophyll a-b binding protein (PsbS1) มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับส่วนรับแสง2 (Light harvesting complex: LHCII) ในระบบแสง2 ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช (Kiss และคณะ 2008) ยีน *Psbs1* สามารถพบในพืช C_3 และ C_4 (Iwasaki และคณะ 1997, Jansson 1994, Kim และคณะ 1992, Wallbraun และคณะ 1994, Wedel และคณะ 1992, Wyrich และคณะ 1998) การแสดงออกของยีน *Psbs1* ทำหน้าที่ควบคุมการสร้าง chlorophyll a-b binding protein หรือโปรตีน PsbS มีบทบาทสำคัญในการกระจายพลังงานส่วนเกินที่สามารถก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืช (non-photochemical quenching; NPQ) ซึ่งเป็นกลไกลป้องกันอันตรายจากแสง (photoprotective) ใน thylakoid membranes ของพืชชั้นสูง (Kiss และคณะ 2008) ทั้งนี้ NPQ เป็นการอธิบายถึงกระบวนการกระจายพลังงานที่เกิดขึ้นภายใต้สภาพที่มีแสงส่วนเกิน โดยจะไปลดพลังงานแสงที่ไม่ได้รับการดูดกลืนจาก LHCII (Horton และคณะ 1996, Niyogi 1999) ซึ่งโปรตีน PsbS อยู่บริเวณระหว่าง PSII และ LHCII ซึ่ง LHCII มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับ PsbS และ antenna ของ PSII (ภาพที่ 6) การที่ thylakoid lumen มีโปรตรอน (H^+) ลดลง ส่งผลให้โปรตีน PsbS ไม่ทำงาน จึงทำให้มีการถ่ายทอดอิเล็กตรอนจาก LHCII ไปยัง PSII และ PSI ทำให้เกิดการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชได้ตามปกติ แต่ถ้าใน thylakoid lumen มีความเป็นกรดต่ำ(มี H^+ สูง) ทำให้ PsbS ทำงาน (Niyogi และคณะ 2004, Tikkanen และคณะ 2010) การตอบสนองของโปรตีน PsbS สามารถเปลี่ยนแปลงกลับไปกลับมาระหว่างเป็นตัวรับ และกระจายแสงบริเวณ antenna จากการศึกษาของ Holt และคณะ (2004) พบว่าโปรตีน PsbS มีกลไกลการกระจายแสงโดยเกี่ยวข้องกับการจับกันระหว่าง PsbS และ zeaxanthin (เป็นกลุ่มของ carotenoid) ใน antenna ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Li และคณะ (2000) พบว่าเมื่อโปรตีน PsbS หายไปค่า NPQ ลดลงตามไปด้วย และการเกิดของ zeaxanthin มีความสัมพันธ์โดยตรงกับ NPQ ในพืชชั้นสูงและสาหร่าย เมื่อเกิด NPQ มีการเปลี่ยนแปลงจาก violaxanthin เป็น zeaxanthin โดยผ่าน xanthophyll cycle และเปลี่ยนแปลงไปตามค่า pH ใน thylakoid membrane (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 6 ตำแหน่งที่อยู่ของโปรตีน PsbS LHC Violaxanthin และ Zeaxanthin และการเปลี่ยน เปลี่ยนแปลงของค่า pH บริเวณ thylakoid lumen และการทำงานของโปรตีน PsbS เมื่อค่า pH เปลี่ยนแปลงไป VDE; violaxanthin de-epoxidase (Niyogi และคณะ 2004)



ภาพที่ 7 xanthophyll cycle ในพืชชั้นสูงบริเวณ tylakoid membrane โดยมีการเปลี่ยนแปลง จาก Violaxanthin เป็น Zeaxanthin อาศัยเอนไซม์ de-epoxidase (VDE) และการเปลี่ยนจาก Zeaxanthin เป็น Violaxanthinnthin อาศัยเอนไซม์ zeaxanthin epoxidase (ZE) (Yamamoto 1979)