ตรวจเอกสาร

1. ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส

ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. จัดอยู่ในวงศ์ Myrtaceae และ มีชื่อสามัญว่า River red gum มีถิ่นกำเนิดในประเทศออสเตรเลียเป็นส่วนใหญ่ ประเทศไทยนำเข้ามาปลูกครั้งแรกเมื่อ พ.ศ. 2493 ได้มีการทดสอบชนิดพันธุ์ต่าง ๆ เมื่อปี พ.ศ. 2507 พบว่า ไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดและอัตราการตายน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับยูคาลิปตัสชนิดอื่น ปัจจุบันนี้ได้มีการปลูกไม้ยูคาลิปตัสกันอย่างกว้างขวาง เพราะคุณลักษณะที่สำคัญของไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส เช่น เป็นไม้เนื้อแข็ง เจริญเติบโตได้ในหลากหลายสภาพพื้นที่เพาะปลูก เช่น พื้นที่ดินเค็ม ดินเปรี้ยว แต่จะไม่ทนทานต่อดินที่มีหินปูนสูง (เกษมสุข, 2533; กรมป่าไม้, ไม่ปรากฏปี)

พื้นที่ปลูกไม้ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส ในประเทศไทยส่วนใหญ่อยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (1.3 ล้านไร่) รองลงมาคือ ภาคตะวันออก (0.8 ล้านไร่) ภาคเหนือตอนล่าง (0.4 ล้านไร่) และ ภาคตะวันตก (0.3 ล้านไร่) ตามลำดับ (อัจฉรา และคณะ, 2547)

ยูคาลิปตัส คามาลดูเลนซิส จัดเป็นพืชทนเค็มปานกลาง (ค่าการนำไฟฟ้า 4-8 dS/m) (Benyon *et al*., 1999; Anonymous, 2002) และจัดเป็นพืชที่สำคัญ เพื่อการพัฒนาที่ดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การปลูกยูคาลิปตัส เป็นระยะเวลานานสามารถช่วยลดระดับน้ำใต้ดินซึ่งเป็นการควบคุมปริมาณน้ำจากแหล่งใต้ดิน โดยพืชสามารถทำได้ในรูปของการคายระเหย รวมถึงชะลอหรือเก็บกักน้ำที่ติดตามใบไม่ให้ไหลลงไปในดิน ลดการระเหยของสารละลายเกลือไม่ก่อให้เกิดการสะสมของเกลือบนผิวดิน ซึ่งสามารถช่วยในการปรับปรุงคุณสมบัติของดินทั้งด้านความอุดมสมบูรณ์และทางด้านกายภาพของดินได้ในสภาพรวม (ชัยนาม, 2539; Luangjame and Lersirivorakul, 2003)

2. ดินเค็มและการแพร่กระจายดินเค็ม

ดินเค็ม หรือ ดินที่ได้รับอิทธิพลของเกลือ (Salt affected soils) หมายถึง ดินที่มีเกลือที่ละลายน้ำได้อยู่มากจนมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของพืช (อรุณี, 2539; Zhu, 2003) เกลือที่มีอยู่ในดินเค็มส่วนใหญ่เกิดจากการรวมตัวกันของธาตุที่เป็นไอออนบวก เช่น

โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม และธาตุที่เป็นไอออนลบ เช่น คลอไรด์ ซัลเฟต ไบคาร์บอเนต และไนเตรต (Miller, 1995) ดินเค็มที่เกิดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อยู่ในรูปของโซเดียมคลอไรด์ คล้ายคลึงกับดินชายทะเล แต่ดินเค็มชายทะเลมีแมกนีเซียมอยู่ในรูปคลอไรด์และซัลเฟตมากกว่าดินเค็มในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อรุณี, 2539) การแพร่กระจายดินเค็มมีทั้งสาเหตุที่เกิดเองตามธรรมชาติ และมนุษย์เป็นตัวกระทำ สาเหตุจากธรรมชาติ ได้แก่ การสลายตัวหรือผุพังของหินหรือแร่ที่อมเกลือในชั้นเกลือใต้ดิน ซึ่งเกลือเหล่านี้อาจสะสมอยู่กับที่หรือเคลื่อนตัวไปกับน้ำ และซึมลงสู่ชั้นล่าง หรืออาจซึมกลับขึ้นสู่ผิวดินได้โดยการระเหยของน้ำไปโดยพลังงานแสงแดด หรือถูกพืชนำไปใช้ (Munns, 2000) เราจะพบพื้นที่ดินเค็มได้ในหลายจังหวัดบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อรุณี, 2539) และยังสามารถพบได้ในบริเวณที่ราบต่ำและพื้นที่ชายฝั่งที่มีน้ำทะเลท่วมถึงมาก่อน (Rowell, 1994) การแพร่กระจายดินเค็มที่มีสาเหตุจากมนุษย์เป็นตัวกระทำ ได้แก่ การทำนาเกลือ โดยสูบน้ำเค็มขึ้นมาตาก หรือขูดเอาคราบเกลือจากผิวดินมาต้ม อาจทำให้พื้นที่ใกล้เคียงเป็นพื้นที่ดินเค็มได้ หากการระบายน้ำไม่พอเพียง การสร้างอ่างเก็บน้ำบนพื้นที่ดินเค็มหรือพื้นที่ที่มีน้ำใต้ดินเค็ม ส่งผลให้เกิดการยกระดับของน้ำใต้ดิน (อรุณี, 2539) การจัดการระบบชลประทานที่ไม่เหมาะสม (อรุณี, 2539; Munns, 2000) การตัดไม้ทำลายป่า ทำให้สภาพการรับน้ำของพื้นที่ไม่มีประสิทธิภาพ น้ำจากพื้นที่รับน้ำไหลลงไประบบน้ำใต้ดินเค็มของพื้นที่ ก็เป็นสาเหตุปัญหาดินเค็มตามมา เกลือในรูปปุ๋ยเคมี และสารเคมี ถ้าเกิดการสะสมมาก ๆ และ ชะล้างลงสู่แหล่งน้ำใต้ดินก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งเช่นกัน (Rowell, 1994) ดังที่กล่าวมาข้างต้นในพื้นที่หลาย ๆ จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย สามารถสังเกตลักษณะของดินเค็มได้คือ จะเห็นขุยเกลือขึ้นตามผิวดิน และมักเป็นที่ว่างเปล่าไม่มีเกษตรกรรม หรือถ้าไม่เห็นขุยเกลือก็จะเป็นพื้นที่ว่างเปล่าไม่มีพืชอื่นขึ้น ยกเว้นวัชพืชที่ชอบเกลือ (สมศรี, 2539; กรมพัฒนาที่ดิน, 2540)

ดินเค็มตามธรรมชาติส่วนใหญ่ที่พบในประเทศไทย จัดเป็น saline-sodic soils เกิดจากการสะสมโซเดียมคลอไรด์ในปริมาณมาก พบได้ในแถบแห้งแล้ง ฝนตกน้อยจึงไม่ค่อยมีการชะล้างเกลือ saline-sodic soils คือ ดินที่มีลักษณะอยู่ระหว่างดินเค็มและดินโซดิก มีทั้งเกลือที่ละลายได้ง่ายและโซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่มากจนก่อให้เกิดอันตรายต่อพืช มีสภาพการนำไฟฟ้ามากกว่า 4 dS/m มีค่าร้อยละของโซเดียมที่แลกเปลี่ยนได้ไม่ต่ำกว่า 15 หรือ มีค่าสัดส่วนของโซเดียมที่ถูกดูดซับ (Sodium absorbtion ratio) ไม่ต่ำกว่า 13 และมีค่า pH ต่ำกว่า 8.5 (ยงยุทธ, 2524)

3. <u>ผลกระทบของเกลือต่อพืช</u>

เกลือในพื้นที่ปัญหามีผลทำให้ การเจริญเติบโตของพืชถูกยับยั้ง ผลผลิตพืชลดลง (Masmoudi *et al*., 2001) ทั้งนี้เนื่องมาจากสาเหตุหลายประการ ดังต่อไปนี้

ในพื้นที่ดินเค็ม มีเกลือที่ละลายน้ำอยู่ปริมาณมากซึ่งทำให้พืชเกิดภาวะ osmotic stress เป็นผลเนื่องมาจากพลังงานศักย์ของน้ำในดินลดต่ำลงกว่าในรากพืช การเคลื่อนที่ของน้ำจากดินไปสู่รากพืชเป็นไปได้ยากมากขึ้น ถึงแม้ดินยังคงมีความชุ่มชื้น (Singer and Munns, 1992) ส่งผลให้พืชขาดน้ำในที่สุด ลักษณะอาการของพืชที่ปลูกบนพื้นที่ดินเค็มจะมีลักษณะอาการเช่นเดียวกับการขาดน้ำ คือ สูญเสียความเต่ง ปากใบปิดมากขึ้น การคายน้ำลดลง การยืดตัวของเซลล์ลดลง

เมื่อพืชเจริญเติบโตในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นสูงจะส่งผลให้พืชดูดเกลือเข้าไปเก็บสะสมเป็นจำนวนมาก ซึ่งจะเกิดความเป็นพิษต่อระบบการทำงานต่าง ๆ ในพืช เช่น มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ ความคงตัวของเมมเบรน และการทำงานของออร์แกแนลต่าง ๆ นอกจากนี้เมื่อความเข้มข้นของโซเดียม และคลอไรด์สูงมากในสารละลายดิน ไอออนดังกล่าวจะขัดขวางกลไกการดูดธาตุอาหารทำให้พืชได้รับธาตุอาหารไม่เพียงพอ ในดินที่มีโซเดียมอยู่มากพืชจะมีปัญหาในการดูดธาตุโพแทสเซียมและแคลเซียมจากดิน (Grattan and Grieve, 1999) เนื่องจากว่า ไอออนของโซเดียม จะแทรกแซงกลไกการดูดโพแทสเซียม และแคลเซียมของรากพืช (ยงยุทธ, 2524) เช่นเดียวกับ คลอไรด์อาจจะแทรกแซงกลไกการดูดไนเตรต (Saneoka *et al*., 1991) ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อความสมดุลธาตุอาหารพืช

สภาวะเครียดจากเกลือ เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงลดลง ซึ่งจะนำไปสู่การเพิ่มของพวก reactive oxygen species (ROS) ในคลอโรพลาส เนื่องมาจากความเข้มข้นของเกลือในสารละลายเพิ่มสูงขึ้น ทำให้ค่า water potential ในดินลดต่ำลง ความสามารถในการดูดน้ำของพืชลดลง ดังนั้นพืชจึงมีการตอบสนองโดยการปิดปากใบ เพื่อลดการสูญเสียน้ำ ส่งผลให้เกิดการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ของใบพืชลดลง ทำให้ $NADP^+$ มีจำกัด เนื่องมาจากขบวนการ Calvin cycle ไม่สามารถออกซิไดซ์ (oxidize) NADPH ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุให้ $NADP^+$ ไม่สามารถรับอิเล็กตรอนได้ ดังนั้น O_2 จึงเป็นตัวรับอิเล็กตรอนแทนเป็นผลให้เกิดการสร้าง reactive oxygen species ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ (O_2^-) (Hernández and Almansa, 2002; McKersie, 1996) นอกจากนี้ ซูเปอร์ออกไซด์ (O_2^-) ยังสามารถเปลี่ยนไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และ ไฮดรอกซิล (OH^-) ซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์ (Hernández and Almansa, 2002)

reactive oxygen species ที่เกิดขึ้นนี้ทำอันตรายต่อเซลล์เนื่องจากเป็นอะตอมหรือโมเลกุลที่มี unpaired electron 1 หรือมากกว่า 1 จึงมีแนวโน้มที่จะแย่งอิเล็กตรอนจากสารตัวอื่นทำให้มีคุณสมบัติ reactive สูง สามารถทำลายเนื้อเยื่อได้ (อาภัสรา, 2543) reactive oxygen species ที่เพิ่มสูงขึ้นในเซลล์ สามารถทำลายพวกโมเลกุล ต่าง ๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน DNA และ เกิดกระบวนการ lipid peroxidation มีผลทำให้เมมเบรนเสียสภาพ และเกิดการรั่วไหลของไอออน (Mckersie, 1996; Asada, 1999; Johnson *et al*., 2003)

4. <u>ความสามารถในการทนเค็มของพืช</u>

การทนเค็มของพืช หมายถึง ความสามารถของพืชที่เจริญเติบโตจนครบชีพจักรบนพื้นที่ดินเค็ม (สมศรี, 2539) พืชแต่ละชนิดมีกลไกในการปรับตัวที่แตกต่างกัน ซึ่งในการปรับตัวจะมากหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับ ชนิดของพืช ช่วงการเจริญเติบโตของพืช ชนิดของเกลือ ความเข้มข้นของเกลือ และระยะเวลาที่พืชได้รับเกลือ (Shannon *et al*., 1994) ความสามารถในการทนเค็มของพืช แบ่งออกได้เป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มพืชทนเค็ม (Holophyte) หมายถึง พืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีเกลือละลายอยู่ในความเข้มข้นสูง พืชกลุ่มนี้สามารถปรับตัวได้รวดเร็วตลอดช่วงการเจริญเติบโต พืชไม่ทนเค็ม (Glycophyte) เป็นพืชที่ไม่สามารถดำรงอยู่ในความเข้มข้นเกลือที่สูง แต่สามารถปรับตัวได้บ้างในสภาพที่ดินมีความเข้มข้นของเกลือต่ำ (Orcutt and Nilsen, 2000) กลไกที่พืชปรับตัวในสภาพดินเค็มมีลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

4.1 การปรับออสโมติก (Osmotic adjustment)

การปรับออสโมติกเป็นกลไกหนึ่งที่มีความสำคัญในการปรับตัวของพืชที่เจริญเติบโตบนพื้นที่ดินเค็ม โดยพืชจะดูดไอออนเข้ามาสะสมในแวคิวโอล และมีการสะสมอินทรีย์สารในไซโทซอล ดังแสดงในตารางที่ 1 กลไกทั้งสองช่วยให้พืชรักษาแรงเต่งในเซลล์พืช ทำให้เซลล์สามารถทำงานได้ปกติ อินทรีย์สารที่มีการสะสมส่วนใหญ่ในพืช เรียกว่า compatible solute (Hasegawa *et al*., 2000; Zhifang and Loescher, 2003) เช่น amino acid และ อนุพันธ์ของ amino acid (proline, glycine betaine), simple sugar (fructose และ glucose), sugar alcohol (glycerol และ methylated inositols), และ complex sugar (trehalose, raffinose และ fructans) ดังแสดงในตารางที่ 2 compatible solute หลายชนิดทำหน้าที่เป็น osmoprotectant และทำหน้าที่ปรับออสโมติกไปพร้อม ๆ กันด้วย เช่น glycine betaine จะสามารถปกป้อง thylakoid และ plasma membrane จากสภาพเครียดจากเกลือ พืชสามารถสะสม compatible solute สามารถสะสมในไซโทซอลได้ใน

ปริมาณสูงจะไม่มีกระทบต่อขบวนการชีวเคมีในเซลล์พืช และนอกจากนี้ compatible solute ช่วยปกป้องการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ เมื่อพืชได้รับผลกระทบจากเกลือเช่นกัน

ในหม่อนพันธุ์ทนเค็มมีการสะสม proline และมีกิจกรรมของเอนไซม์ pryrroline-5-carboxylate reductase สูงกว่าในพันธุ์อ่อนแอ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนำไปสู่การดำรงรักษาแรงเต่งในเซลล์พืช และนอกจากนี้ ในหม่อนพันธุ์ทนเค็มมีการสังเคราะห์ glycine betaine เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ถูกทำลายลดลง (Kumar, 2003) ผลจากการทดลองอื่น ๆ แสดงให้เห็นว่าการสะสม Proline มีความสัมพันธ์ในกระบวนการทนทานต่อสภาวะขาดน้ำ และสภาวะเครียดจากเกลือของพืช ข้าวที่ได้รับการถ่ายยีน pryrroline-5-carboxylate synthetase (p5cs) cDNA และ มี stress inducible promoter เป็นองค์ประกอบ มีการแสดงออกของ p5cs mRNA และ Proline เพิ่มสูงขึ้น และต้นกล้าที่ได้รับการถ่ายยีนมีการเจริญเติบโตของยอดและรากสูงกว่าต้นกล้าที่ไม่ได้รับการถ่ายยีน (Jin and Wu, 2004)

ตารางที่ 1 สารต่าง ๆ ที่มีการสะสมสูงขึ้นในเซลล์เมื่อพืชตอบสนองต่อสภาวะเครียดจากเกลือมีหน้าที่ช่วยในกระบวนการทนเค็มในพืช

Product group	Specific compound	Suggested function(s)	References
Ions	Sodium, chloride	Osmotic adjustment	
		Potassium exclusion/Export	Blumwald et al. (2000); Hasegawa et al. (2000); Nilu et al. (1995) Koyro (2000)
Proteins	Osmotic	Pathogenesis-related protein	Khan et al. (2000a,b)
	SOD/Catalase	Osmoprotoction	Bohnert and Jensen (1996)
		Radical detoxification	Bohnert and Jensen (1996); Allen et al (1997); Hernandez et al. (2002)
Amino acids	Proline	Osmotic adjustment	Khatkar and Kuhad (2000); Singh et al. (2000); Lin et al. (2002)
	Ectoine	Osmoprotection	Lippert and Galinski (1992)
Sugars	Glucose, fructose, sucrose	Osmotic adjustment	Kerepesi and Galiba (2000)
	Fructans	Osmoprotection, carbon storage	Bohnert and Jensen (1996); Pilon-Smits et al. (1995)
Polyols	Acyclic (e.g.,manitol)	Carbon storage, osmotic adjustment	Popp et al. (1985); Bohnert et al. (1995)
	Cyclic (e.g.,pinitol)	Osmoprotection, osmotic adjustment	Ford (1984); Bohnert et al. (1995)
		Retention of phytochemical efficiency of PSII	Sun et al. (1999)
		Radical scavenging	Smimoff and Cumbes (1989); Ortben et al. (1994)
Polyamine	Spermine, spermidine	Ion balance, chromatin protection	Tiburico et al. (1993); SantaCruz et al. (1998)
Quaternary amines	Glycine betaine	Osmoprotection	Khan et al.(2000a); Wang and Nil (2000)
		Preservation of thylakoid and plasma membrane intregrity	Rhodes and Hanson (1993)
	b-Alanine betaine	Osmoprotection	Rhodes and Hanson (1993)
	Dimethyl-sulfonio propionate	Osmoprotection	Hanson (1998); Trossat et al.(1998)
	Choline-o-sulfate	Osmoprotection	Nuocio et al. (1999)
	Trigonelline		Rajasekaran et al. (2001)
Pigments	Carotenoids, anthocyanins, betalaines		Foyer et al. (1994); Adam et al.(1992a); Kennedy and De Fillippis (1999)
	Protection against photoinhibition		

ที่มา: Parida and Das (2005)

ตารางที่ 2 Compatible solute ที่สะสมในเซลล์พืชเมื่อสภาวะขาดน้ำและสภาวะเครียดจากเกลือ

Carbohydrate	**Nitrogenous compound**	**Organic acid**
Sucrose	Protein	Oxalate
Sorbitol	Betaine	Malate
Mannitol	Glutamate	
Glycerol	Aspartate	
Arabinitol	Glycine	
Pinitol	Choline	
Orther Polyols	Putrescine	

ที่มา: Sairam and Tyagi (2004)

4.2 การจัดเก็บโซเดียม (Sodium compartmentation)

พืชในกลุ่มทนเค็ม (holophyte) และ กลุ่มไม่ทนเค็ม (glycophyte) ไม่สามารถที่จะทนต่อสภาพที่มีเกลือในไซโทพลาสซึมสูงได้ ส่งผลให้เกิดการทำลายสมดุลไอออน ดังนั้นการควบคุมการดูดของไอออน และการจัดเก็บไอออนในแวคิวโอลจึงเป็นกลไกที่สำคัญ สำหรับพืชที่เจริญเติบโตบนพื้นที่ดินเค็มโดยในพืชทนเค็มส่วนใหญ่จะใช้กลไกการจัดเก็บโซเดียมเข้าสู่แวคิวโอลแต่ในพืชไม่ทนเค็มจะขับเกลือออกไปนอกเซลล์หรือแยกให้อยู่เฉพาะในรากและลำต้น จึงพบเกลือได้น้อยในส่วนของใบ (Asish and Das, 2005)

การลำเลียงโซเดียมไปสู่แวคิวโอล ต้องอาศัยการทำงานของ ตัวสูบโปรตรอน ได้แก่ vacuolar (V-ATPase), plasma membrane (P-ATPase), vacuolar pyrophosphatase (V-PPase) และขบวนการ secondary transport ได้แก่ Na^+/K^+ antiporter ขบวนการที่เกิดขึ้นนี้ต้องใช้พลังงาน ATP ซึ่งมีบทบาทมากในพืชทนเค็ม มีรายงานว่าในพืช Arabidopsis มี AtNHX1 gene ซึ่งจะแปลรหัสเป็นโปรตีน vacuolar Na^+/K^+ antiporter และมีบทบาทสำคัญในการทนเค็มเมื่อพืชเผชิญสภาวะเครียดจากเกลือ (Shi and Zhu, 2002.; Mansour *et al*., 2003) ยังมีรายงานเพิ่มเติมอีกว่า การ overexpression ของยีน AtNHX1 ใน Arabidopsis, มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) และ Canola (*Brassica napus*) (Apse *et al*., 1999; Zhang and Blumwald, 2001) ช่วยปรับปรุงให้พืชทนเค็ม

4.3 กลไกลดความเป็นพิษของ Reactive oxygen species (ROS)

สภาวะเครียดจากเกลือ ทำให้พืชอยู่ในสภาวะ osmotic stress ส่งผลให้เกิดการสร้าง reactive oxygen species (ROS) สูงขึ้น พืชมีกลไกในการป้องกันอันตรายจากพวก reactive oxygen species โดยการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระหรือที่เรียกว่า antioxidant (AOS) มีทั้งพวกเอนไซม์และไม่ใช่เอนไซม์ ซึ่งสามารถลดความเป็นพิษจาก reactive oxygen species ที่ถูกสร้างขึ้นภายในเซลล์ต่าง ๆ ได้ antioxidant ที่ไม่ใช่เอนไซม์ ได้แก่ ascorbate, glutathione, phenolic compound และ tocopherols, พวกที่เป็นเอนไซม์ได้แก่ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX), glutathione reductase (GR) (McKersie, 1996; Vaidyanathan *et al*., 2003 และ Yordanova, 2004) ภายใต้สภาวะปกติของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ออกซิเจน พืชมีการผลิต reactive oxygen species และมีการสร้างสาร antioxidant เพื่อลดความเป็นพิษอยู่แล้ว แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพืชได้รับสภาวะเครียดจากเกลือ ส่งผลให้เกิดการสร้างพวก reactive oxygen species เพิ่มขึ้นเกินกว่าระดับปกติ พืชจึงเกิดสภาวะ oxidative Stress เป็นผลมาจากความไม่สมดุลที่มี reactive oxygen species เพิ่มขึ้นขณะที่ antioxidant ไม่เพียงพอ

ในพืชทนเค็มหลายชนิด มีการชักนำให้เกิดการสร้าง antioxidant เพิ่มสูงขึ้นซึ่งจะสามารถบรรเทาอันตรายที่เกิดจาก oxidative stress ดังต่อไปนี้

4.3.1 Superoxide dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)

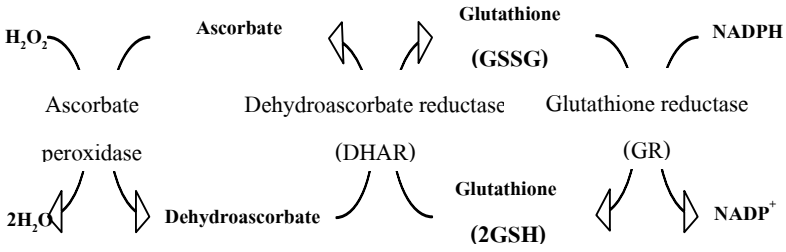
Superoxide dismutase (SOD) เป็นเอ็นไซม์ตัวแรกที่กำจัดพวก reactive oxygen species ภายใต้สภาวะ oxidative stress โดย SOD สามารถเปลี่ยน superoxide radical ไปเป็น hydrogen peroxide ดังสมการที่ 1 SOD จัดเป็นพวก metalloenzyme เป็นเอนไซม์ที่เกาะติดอยู่กับโลหะหรือจัดเป็นพวก prosthetic metal ได้แก่ Cu/Zn SOD พบในส่วนของ ไซโทซอล และคลอโรพลาส Mn-SOD พบในไมโทคอนเดรียของยูคารีโอต Fe-SOD สามารถตรวจพบได้น้อยในพืช จะพบเพียงในส่วนของคลอโรพลาส (Bowler *et al*., 1992; Guan and Scadalios, 2000; Raychaudhuri *et al*., 2000; Yordanova, 2004). amino acid sequence ของ Cu/Zn SOD ที่พบในส่วนของ ไซโทซอล และคลอโรพลาส มีความเหมือนกันของลำดับ amino acid ประมาณ 68 % (Alscher *et al*., 2002)

$$^{\bullet}O_2^- + {}^{\bullet}O_2^- + 2H \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2 \quad (1)$$

Cu/Zn SOD พบส่วนใหญ่ในยูคาริโอต อย่างไรก็ตามก็ยังสามารถตรวจพบในแบคทีเรียบางชนิด ได้แก่ *Photobacterium leiognathi*, *Caulobacte crescentus* และ *Psudomonas sp*.

4.3.2 Ascorbate Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11)

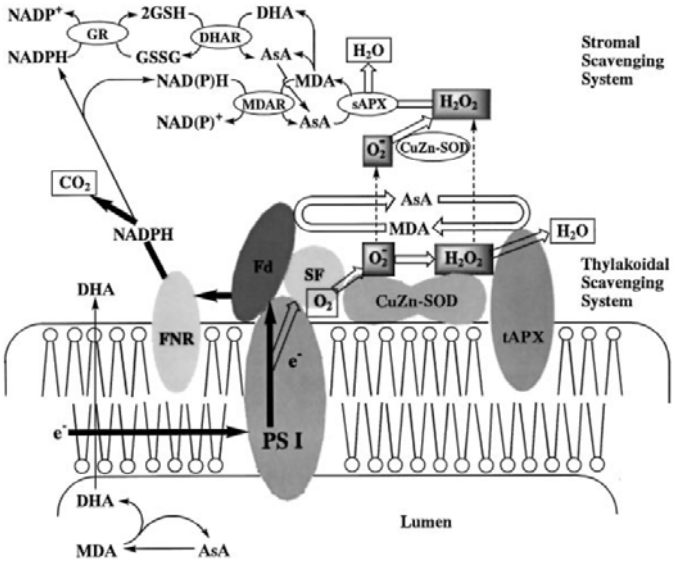
Ascorbate peroxidase (APX) เป็นเอ็นไซม์ที่อยู่ในกลุ่ม ascorbate-glutathaione cycle ที่มีบทบาทในการลดความเป็นพิษของ hydrogen peroxide ภายในเซลล์ ดังสมการที่ 2 (Foyer, 1993) APX พบในส่วนต่าง ๆ ของเซลล์ ได้แก่ คลอโรพลาส สโตรมา เมมเบรนของไทลาคอยด์ ไมโครบอดี้ ไมโตคอนเดรีย และ ไซโทซอล (Gómez *et al*., 2004)



(2)

พืชที่สามารถเจริญเติบโตภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือ จะมีกลไกป้องกันอันตรายจาก reactive oxygen species ดังตัวอย่างจากการศึกษาในฝ้ายพันธุ์อ่อนแอ และ พันธุ์ทนเค็ม ของ Gossett *et al*. (1994) พบว่าฝ้ายทนเค็ม มีกิจกรรมของเอ็นไซม์ (antioxidant) เพิ่มสูงขึ้น ได้แก่ superoxide dismutase, catalase, peroxidase, ascorbate peroxidase และ glutathione reductase เช่นเดียวกับ Gueta-Dahan *et al*. (1997) ได้ศึกษาบทบาทที่สำคัญของเอนไซม์ SOD และ APX ในสภาวะ oxidative stress ที่ถูกชักนำด้วยเกลือ พบว่าเอนไซม์ APX สามารถใช้เป็นตัวคัดเลือกส้มทนเค็มได้ เนื่องจากแคลลัสของส้มทนเค็มมีการสร้างเอนไซม์ ascorbate peroxidase สูงกว่าแคลลัสไม่ทนเค็มมาก นอกจากนี้ Karanlik *et al*. (2000) พบว่าข้าวสาลีพันธุ์ต้านทานต่อดินเค็ม มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD, APX และ glutathaione reductase (GR) เพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน Takemura (2002) ได้ศึกษาการแสดงออกของยีน cytosolic Cu/Zn SOD และ catalase ในต้นโกงกาง (*Bruguiera gymnorrhiza*) ที่อยู่ในกลุ่มพืชทนเค็มมาก ผลจากการศึกษาการแสดงออกของยีนโดยวิธี northern blot analysis พบว่าหลังจากให้เกลือ มีการแสดงออกของยีน cytosolic Cu/Zn

SOD เพิ่มสูงขึ้น จากรายงานต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นได้ว่าเอนไซม์ antioxidant มีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการทนเค็มของพืช ดังนั้น นักวิจัยจึงมีเป้าหมายที่จะใช้กลุ่มของเอนไซม์นี้ให้เกิดประโยชน์ต่อกระบวนการคัดเลือกพืชทนเค็มสำหรับโครงการปรับปรุงพันธุ์พืช



ภาพที่ 1 แสดงกลไกลดความเป็นพิษของ reactive oxygen species (ROS) ในคลอโรพลาส
ที่มา: Asada (1999)

5. การเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีนและโปรตีนเมื่อเกิดสภาวะเครียดจากเกลือ

ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมามีการค้นพบและศึกษาลักษณะของยีนที่มีการตอบสนองต่อสภาวะเครียดจากเกลือในพืชหลากหลายชนิด ทั้งในพืชทนเค็มมาก (*Beta vulgalis*) จนถึงพืชทนเค็มน้อยที่สุด (*Citrus* spp.) ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ได้พัฒนาวิธีการในการศึกษาและทดสอบยีนจำนวนมาก โดยเทคนิคที่เป็น high throughput เช่น Micro-array method ซึ่งใช้ในการศึกษากลุ่มของยีนที่มีการแสดงออก ภายใต้สภาวะเครียดต่าง ๆ ดังมีรายงานใน *Arabidopsis thaliana* ภายใต้สภาวะ abiotic stress ประกอบด้วย drought, cold และ high-salt stress พบประมาณ 130 ยีนที่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้น แต่ละยีนมีบทบาทหน้าที่ต่าง ๆ เช่น ยีนกลุ่มที่ทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณ (signal) บางชนิดช่วยลดความเป็นพิษ และ ยีนอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะเครียด (Bray, 2002) และมีรายงานโดย Motoaki *et al.* (2002) ได้ศึกษาในพืช Arabidopsis เมื่อพืชอยู่ใน

สภาวะเนื่องจาก drought, cold และ salt stress มีการแสดงออกของยีนสูงขึ้น 5 เท่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และมียีนจำนวน 22 ยีนที่มีการแสดงออกสูงขึ้นในทุกสภาวะเครียด

ในสภาวะเครียดจากเกลือพืชมีการเปลี่ยนแปลงระดับการแสดงออกของยีนมากมาย ซึ่งจะมีการแปลรหัสไปเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ ในการปรับตัวของพืช อาทิเช่น โปรตีน LEA (late embryogenesis abundance) มีบทบาทในการปกป้องโครงสร้างและส่วนประกอบของเซลล์ (Moons *et al*., 1995), โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งไอออนเช่น high affinity K^+ transporter (HKT) (Rubio *et al*., 1995) และ low affinity cation transporter (LCT) ทำหน้าที่นำโซเดียมไอออนเข้าสู่เซลล์ (Schachtman *et al*., 1997), Na^+/H^+ antiporter (NHX) ซึ่งทำหน้าที่นำโซเดียมไอออนไปเก็บสะสมในแวคิวโอล (Gaxiola *et al*., 1999),

ในสภาวะเครียดจากเกลือ พืชมีการสังเคราะห์ protease inhibitor (Lopez *et al*., 1994) และ heat shock protein เพิ่มสูงขึ้น ซึ่ง heat shock protein ทำหน้าที่เป็น chaperones proteins ปกป้องโปรตีนอื่นที่อาจถูกทำลาย และ ช่วยให้โปรตีนอื่นที่เสียสภาพกลับมาสู่สภาพเดิม (Borkird *et al*., 1991) จากที่กล่าวมาแล้วพืชทนเค็มยังมีการสร้างเอนไซม์ antioxidants เพิ่มสูงขึ้น เช่น ascorbate peroxidase (APX), glutathaion peroxidase (GPX) และ superoxide diamutase (SOD) (Karanlik *et al*., 2000) และมีการสังเคราะห์ compatible solute ต่าง ๆ เพิ่มขึ้น เช่น proline อีกทั้งยังมีการสร้างเอนไซม์ P5CS เพิ่มสูง ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ proline จาก glutamate (Williamson and Slocum, 1992) และเอนไซม์ choline monooxygenase และ betaine aldehyde ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยน choline ไปเป็น glycine betaine (McCue and Hanson, 1992) นอกจากนี้ มีโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการแสดงออกของยีนในสภาวะเครียดจากเกลือ เช่น receptor-like protein kinase (Hong *et al*., 1997) และ signal transduction pathway ก็เป็นอีกกลุ่มโปรตีนหนึ่งความจำเป็นเช่นกัน