อิทธิพลของความเค็มต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาของถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.) พันธุ์นครสวรรค์ 1 และพันธุ์เชียงใหม่ 60

Effect of Salinity on Physiological responses of Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cv. Nakornsawan 1 and Chiangmai 60

นภวรรณ มัณยานนท์ [1/] ศิริพรรณ บรรหาร [2/]
Napawan Manyanon [1/] Siripan Banharn [2/]

ABSTRACT

This study aimed to determine the physiological response and growth of Nakhonsawan 1 and Chiangmai 60 soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) grown under salinity. Soybeans were treated by nutrient solution supplemented with sodium chloride at 0, 40, 80, and 120 mM for 24 days. At the end of the experimental, root, shoot and leaf dry weight of the all treated soybean under higher salinity concentration significantly decreased when compared to the control. The dry weight of Chiangmai 60 under the salinity condition was higher than Nakhonsawan 1. The cultivars under higher salinity concentration tended to accumulate more proline and increased superoxide dismutase enzyme activity than the control group. However Nakhonsawan 1 exhibited more proline and higher superoxide dismutase enzyme activity than Chiangmai 60 under all salinity concentration.

Key words: soybean, salinity, proline, superoxide dismutase enzyme

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองทางสรีรวิทยาและการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.) พันธุ์นครสวรรค์ 1 และพันธุ์เชียงใหม่ 60 ภายใต้สภาวะความเค็ม

[1/] โรงเรียนสตรีปากพนัง อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80140 โทรศัพท์ 085-5710-355

[1/] Satreepakphanang school Pakpanang district, Nakhornsrithammarat province 80140 Tel. 085-5710-355

[2/] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี โทรศัพท์ 0-3810-3021

[2/] Biology department Faculty of Science Burapha University Muang district Chon Buri province 20131 Tel. 0-3810-3021

ทำการทดลองโดยให้ถั่วเหลืองเจริญอยู่ในสารละลายธาตุอาหารที่มีการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ระดับความเข้มข้น 0 40 80 และ 120 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 วัน พบว่าน้ำหนักแห้งราก ลำต้น และใบ ของทุกชุดการทดลองที่ได้รับเกลือที่ความเข้มข้นสูงในถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่เจริญเติบโตภายใต้ความเค็ม มีค่าสูงกว่าถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 ในการทดลองนี้พบว่าถั่วเหลืองที่ได้รับเกลือในระดับความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มของการสะสมโพรลีนและมีกิจกรรมของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซม์ ดิสมิวเทส เพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุม อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 มีปริมาณโพรลีนสะสมในใบและมีกิจกรรมของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) สูงกว่าถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในทุกชุดการทดลองที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์

คำหลัก: ถั่วเหลือง, ความเค็ม, โพรลีน, เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส

คำนำ

ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทยและทั่วโลก ด้วยประโยชน์และคุณค่าที่หลากหลายทำให้ความต้องการของตลาดโลกเพิ่มขึ้นทุก ๆ ปี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) แต่ผลผลิตของถั่วเหลืองในประเทศไทยไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ในประเทศ จึงมีการนำเข้าจากต่างประเทศปริมาณมากในแต่ละปี สาเหตุหลักที่ทำให้ถั่วเหลืองได้ผลผลิตน้อยมาจากปัญหาพื้นที่เพาะปลูกถูกแทนที่ด้วยการปลูกพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น และปัญหาสภาพดินที่ไม่เหมาะสม เช่น ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือพื้นที่ปลูกพืชหลายแห่งต้องประสบปัญหาสภาวะดินเค็มเนื่องจากอิทธิพลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (เอิบ, 2551) โดยพื้นที่ดินเค็มมีประมาณร้อยละ 15 ของพื้นที่ทั้งหมด จึงทำให้มีพื้นที่ ๆ ใช้ในการเพาะปลูกลดน้อยลง และได้ผลผลิตของถั่วเหลืองในปริมาณน้อยลงด้วย (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557) สภาวะดินเค็มมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืช ทำให้ผลผลิตน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของเกลือในดินที่สูงมากจะเป็นพิษต่อพืช รากพืชดูดน้ำได้น้อยลง และพืชประสบภาวะขาดน้ำ ทำให้การขยายตัวของแผ่นใบและการยืดตัวของลำต้นลดลง (Jacoby, 2008) ในขณะที่พืชได้รับความเสียหายจากเกลือที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตแล้ว พืชยังมีกลไกการปรับตัวต่อความเค็มที่ได้รับ ได้แก่ การสร้าง organic osmolytes เช่น โพรลีน ขึ้นภายในไซโตพลาสซึมเพื่อต่อต้านแรงดันออสโมติกที่เกิดขึ้นจากภายนอก และทำให้ความเข้มข้นของสารละลายภายในเซลล์สูง ส่งผลให้น้ำเคลื่อนที่จากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์มากขึ้นหรือช่วยให้น้ำเคลื่อนที่ออกจากเซลล์น้อยลง ทำให้เซลล์มีแรงดันเต่งเพียงพอที่จะขยายขนาดของเซลล์ (นวรัตน์, 2558) นอกจากนี้พืชยังมีการสร้างเอนไซม์ซูเปอร์

ออกไซด์ ดิสมิวเทส (superoxide dismutase enzyme; SOD) เป็นเอนไซม์หลักในกระบวนการทำลายอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species; ROS) ซึ่งอนุมูลอิสระ เป็นผลทางอ้อมจากการที่พืชได้รับความเค็ม โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะนำไปสู่การเกิด lipid peroxidation และการทำลายองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ โดยเฉพาะการทำลายเยื่อหุ้มคลอโรพลาสต์และไทลาคอยด์ รวมถึงมีผลต่อการส่งถ่ายอิเลคตรอนในระบบแสง 2 อีกด้วย (Ganivea *et al*., 1998)

ดังนั้นหากมีการใช้ประโยชน์จากพื้นที่ดินเค็มในการปลูกถั่วเหลือง จึงจำเป็นต้องมีการคัดเลือกพันธุ์ และปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองที่สามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตในพื้นที่ดินเค็มได้ แนวทางในการศึกษาที่จะช่วยลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ของถั่วเหลือง คือ การศึกษาลักษณะการตอบสนองของสายพันธุ์ถั่วเหลืองในภาวะเค็มของพืช เช่น การสะสมโพรลีน และการเพิ่มขึ้นของสารแอนติออกซิแดนซ์ (Turkan *et al*., 2005) แต่การสะสมโพรลีนและสารแอนติออกซิแดนซ์ในพืชนั้นแตกต่างกันไปตามชนิดและพันธุ์พืช (Molinari *et al*., 2004) สารโพรลีน ทำหน้าที่ช่วยในการปรับแรงดันออสโมติคภายในเซลล์พืชให้ลดต่ำลง เพื่อที่พืชจะได้ดูดน้ำมาใช้ได้มากขึ้น เมื่อพืชได้รับภาวะเค็มปริมาณโพรลีนจะเพิ่มสูงขึ้น (Smirnoff, 1993 ; Turkan *et al*., 2005) เช่นเดียวกันในขณะที่พืชประสบปัญหาภาวะเค็ม พืชจะมีการผลิตสารแอนติออกซิแดนซ์เพื่อรักษาดุลยภาพและลดอัตราการถูกทำลายของเซลล์จากภาวะเครียดที่ได้รับ (Smirnoff, 1993 ; Reddy *et al*., 2004)

ข้อมูลการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ไทยในสภาพดินเค็ม และการตอบสนองทางด้านสรีรวิทยาในประเทศไทยมีค่อนข้างน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาเกี่ยวกับการปรับตัวของถั่วเหลือง ดังนั้นงานวิจัยนี้ต้องการศึกษาการตอบสนองทางด้านการเจริญเติบโตและทางสรีรวิทยาของถั่วเหลืองในสภาพการเจริญเติบโตภายใต้ภาวะเครียดจากความเค็ม เพื่อสามารถนำองค์ความรู้ที่ได้ไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลือง ให้มีผลผลิตสูงในสภาพดินเค็มหรือภาวะความเครียดที่เกิดจากความเค็ม

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การปลูกพืชทดลองและแผนการทดลอง

พืชที่ใช้ทดสอบคือถั่วเหลือง 2 พันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูก ได้แก่ พันธุ์เชียงใหม่ 60 และพันธุ์นครสวรรค์ 1 ทำการปลูกถั่วเหลืองด้วยวิธีการปลูกแบบไฮโดรโพนิกส์ระบบ Deep Flow technique (DFT) ในเรือนเพาะชำ ใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland's solution (half strength) เพาะเมล็ดถั่วเหลืองในม้วนกระดาษที่ชุ่มน้ำเป็นระยะเวลา 3 วัน เมื่อได้ต้นอ่อนถั่วเหลืองที่มีอายุ 3 วัน จึงนำมาหุ้มด้วยฟองน้ำตรงตำแหน่งโคนลำต้นใกล้ราก และบรรจุลงในถ้วยพลาสติกสีดำ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 ซม. นำถ้วยพลาสติกมาใส่ในกระบะโฟมสีขาว ขนาด 80 ซม. x 60 ซม. ที่มีสารละลายธาตุอาหารที่

เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ในแต่ละความเข้มข้น ใช้ตัวอย่างต้นถั่วเหลืองจำนวน 288 ต้นต่อ 1 พันธุ์ถั่วเหลือง ซึ่งในแต่ละกระบะปลูกสามารถปลูกถั่วเหลืองได้ 24 ต้น (1 ต้น = 1 หน่วยทดลอง) วางแผนการทดลองแบบ Randomize Completed Block Design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือความเข้มข้นของเกลือโซเดียวคลอไรด์ 4 ระดับ 0 40 80 และ 120 มิลลิโมลาร์ เก็บข้อมูลหลังจากถั่วเหลืองได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ในแต่ละความเข้มข้น ที่ระยะเวลา 0 4 8 12 16 20 และ 24 วัน ตามลำดับ

2. การวิเคราะห์น้ำหนักแห้งของถั่วเหลือง

นำส่วนต่างๆของต้นถั่วเหลืองแต่ละส่วน ได้แก่ ราก ลำต้น และใบ มาวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้ง (Dry weight) โดยนำตัวอย่างแต่ละส่วนมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลานาน 48 ชม. แล้วนำไปชั่งด้วยเครื่องชั่งละเอียด (Sartorius รุ่น GD603)

3. ศึกษาการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืช

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน

เก็บตัวอย่างใบถั่วเหลืองในตำแหน่งใบกลางของข้อที่ 3 นับจากยอด (ใบอ่อน) และข้อที่ 5 นับจากยอด (ใบแก่) นำมาวิเคราะห์หาปริมาณโพรลีน (ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Bates *et al.* (1973) โดยชั่งตัวอย่างใบสดประมาณ 0.25 ก. บดกับ 3% sulfosalicylic acid ปริมาตร 2.5 มล. และนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ 1 มล. มาเติม acid-ninhydrin ปริมาตร 0.5 มล. และ glacial acetic acid ปริมาตร 0.5 มล. นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 1 ชม. และสิ้นสุดปฏิกิริยาที่ 0 °ซ นาน 10 นาที จากนั้นนำ reaction mixture ที่ได้เติม tuluene ปริมาตร 2 มล. เขย่าประมาณ 15-20 วินาที สารละลายจะเกิดการแยกตัวออกจากกัน ดูดสารละลายส่วนบนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง UV (ยี่ห้อ Shimadzu, U.S.A.)

3.2 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส (SOD)

วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส (SOD) โดยวัดประสิทธิภาพการยับยั้งปฏิกิริยา photochemical reduction ของ nitro blue tetrazolium (NBT) ตามวิธีการของ Drindsa *et al.*(1981) เก็บตัวอย่างใบกลางใน 2 ตำแหน่ง คือ ข้อที่ 2 นับจากยอด (ใบอ่อน) และข้อที่ 1 นับจากโคน (ใบแก่) นำใบพืช 0.5 ก. บดกับ 50 มิลลิโมลาร์ phosphate buffer (pH 7.0) 5 มล. ที่มี polyvinylpyrrolidone 1 % แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 × g 10 นาที นำส่วนใสจากตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร มาหาปริมาณโปรตีนทั้งหมด (total protein) ตามวิธีการของ Lowry method (Lowry *et al.*,1951) และวิเคราะห์ปริมาณ SOD จากตัวอย่างที่สกัดโดยเติม reaction mixture ที่ประกอบด้วย Phosphate buffer (pH 7.8) 50 มิลลิโมลาร์

Methionine 13 มิลลิโมลาร์ NBT 75 ไมโครโมลาร์ Riboflavin 2 ไมโครโมลาร์ และ EDTA 0.1 มิลลิโมลาร์ เริ่มปฏิกิริยาโดยการนำไปส่องภายใต้หลอดฟลูออเรสเซนต์ 15 วัตต์ เป็นเวลา 10 นาที และหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำสารละลายสีน้ำเงินที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 560 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง UV (ยี่ห้อ Shimadzu, U.S.A.) และคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์ SOD (หน่วย/มล. โปรตีน) โดยการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส กราฟมาตรฐานปริมาณโปรตีน และกราฟปฏิกิริยายับยั้ง NBT 50%

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 และเชียงใหม่ 60 เมื่อได้รับความเค็มที่ระดับความเข้มข้น 0 40 80 และ 120 มิลลิโมลาร์ ที่ระยะเวลาแตกต่างกัน พบว่าความเค็มมีผลต่อการสร้างน้ำหนักแห้งของถั่วเหลือง โดยน้ำหนักแห้งของ ราก ลำต้น และใบ มีแนวโน้มลดลงและมีค่าน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ น้ำหนักแห้งของราก ลำต้น และใบของถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์ที่ได้รับความเค็มที่ระดับความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ มีค่ามากกว่าถั่วเหลืองที่ได้รับความเค็มที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 120 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองภายใต้ความเค็มเป็นระยะเวลา 24 วัน พบว่าน้ำหนักแห้งของราก ลำต้น และใบของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในแต่ละระดับความเข้มข้นของเกลือ มีค่ามากกว่าถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 อย่างมีนัยสำคัญ (Figure 1-3) ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Dolatabadian *et al.* (2011) ที่พบว่าถั่วเหลืองที่ได้รับความเค็มมีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของราก น้ำหนักแห้งของลำต้น ความสูง และจำนวนใบถั่วเหลืองน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าความเค็มมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์ โดยความเค็มมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตที่ทำให้น้ำหนักแห้งของราก ลำต้น และใบน้อยกว่าชุดควบคุม เนื่องจากพืชได้รับความเค็ม (≥40 มิลลิโมลาร์) ส่งผลต่อค่าแรงดันออสโมติกที่ทำให้อัตราการขยายตัวของเซลล์ลดลงในเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญ และจะไปลดระดับการเปิดปากใบก่อให้เกิดผลต่อเนื่องในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์และจำกัดอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง ทำให้การลำเลียงสารอาหารไปยังเนื้อเยื่อเจริญทั้งส่วนใบและรากลดลง (Munns and Sharp, 1993)

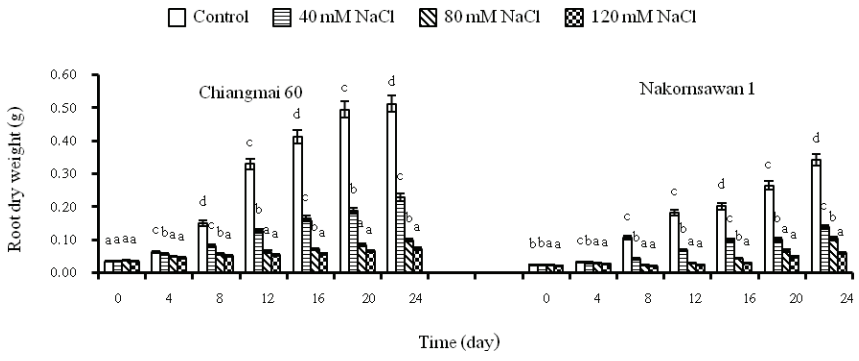

Figure 1 Root dry weight (g) of Chiangmai 60 and Nakornsawan 1 soybean under salinity conditions for 24 days. Mean value with a common letter are not significantly different at 5 % level by DMRT (I : standard error of mean)

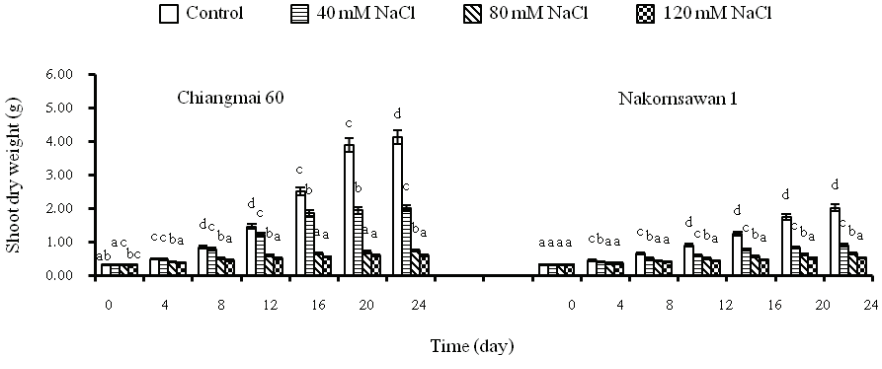

Figure 2 Shoot dry weight (g) of Chiangmai 60 and Nakornsawan 1 soybean under salinity conditions for 24 days. Mean value with a common letter are not significantly different at 5 % level by DMRT (I : standard error of mean)

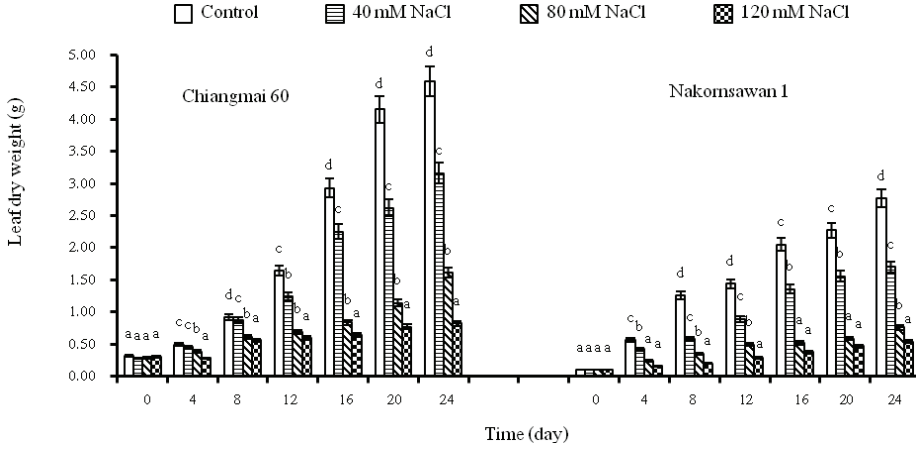

Figure 3 Leaf dry weight (g) of Chiangmai 60 and Nakornsawan 1 soybean under salinity conditions for 24 days. Mean value with a common letter are not significantly different at 5 % level by DMRT (I : standard error of mean)

2. ผลของความเค็มต่อการสะสมโพรลีนของถั่วเหลือง

ความเค็มที่ระดับความเข้มข้น 0 40 80 และ 120 มิลลิโมลาร์ มีผลต่อการสะสมโพรลีนของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 และนครสวรรค์ 1 โดยถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์ที่ได้รับความเค็มทุกระดับความเข้มข้น มีแนวโน้มการสะสมโพรลีนสูงขึ้น และสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อถั่วเหลืองได้รับความเค็มเป็นระยะเวลา 24 วัน พบว่า ถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 มีปริมาณการสะสมโพรลีนมากกว่าถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ทั้งตำแหน่งใบกลางในข้อที่ 3 นับจากยอด (ใบอ่อน) และตำแหน่งใบกลางในข้อที่ 5 นับจากยอด (ใบแก่) ในทุกระดับความเข้มข้นของเกลือ (Figure 4-5) การสะสมโพรลีนทั้งตำแหน่งใบอ่อนและใบแก่มีค่ามากที่สุดในถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์

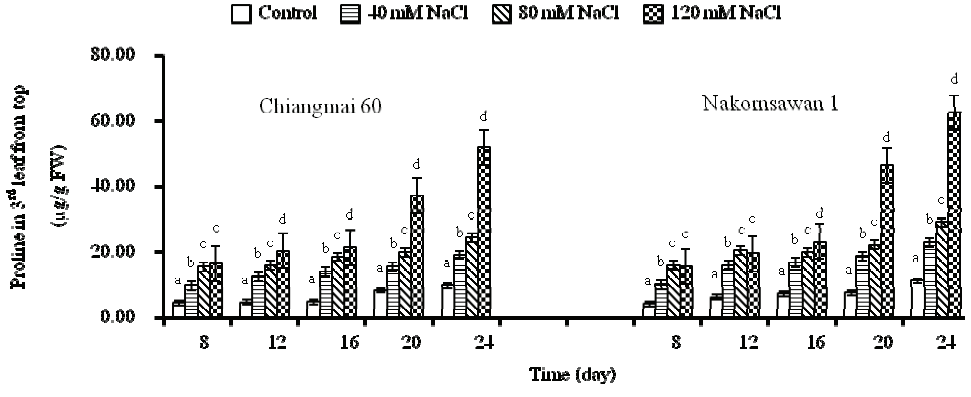

Figure 4 Proline in 3rd leaf from top (g/g FW) of Chiangmai 60 and Nakornsawan 1 soybean under salinity conditions for 24 days. Mean value with a common letter are not significantly different at 5 % level by DMRT (I : standard error of mean)

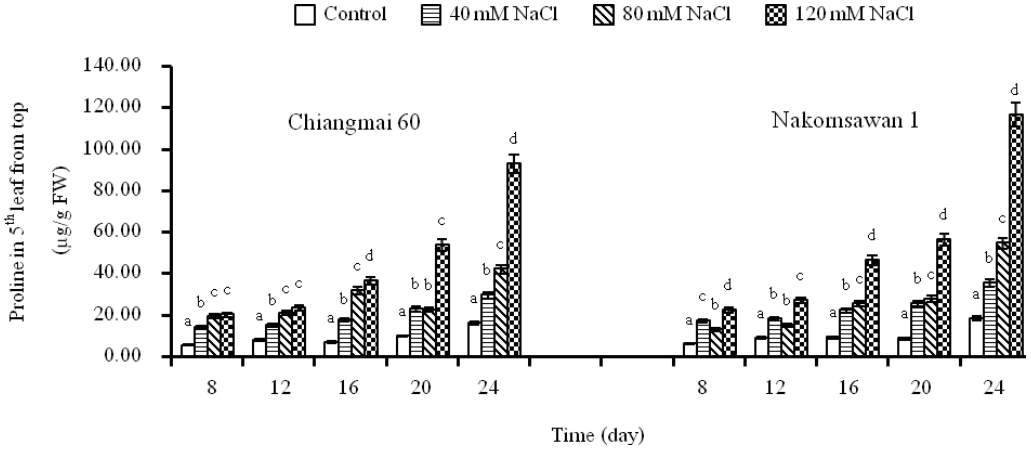

Figure 5 Proline in 5th leaf from top (g/g FW) of Chiangmai 60 and Nakornsawan 1 soybean under salinity conditions for 24 days. Mean value with a common letter are not significantly different at 5 % level by DMRT (I : standard error of mean)

ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือ 120 มิลลิโมลาร์ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการสะสมโพรลีนระหว่างใบกลางในทั้งสองตำแหน่ง พบว่าถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์มีปริมาณการสะสมโพรลีนในใบกลางในตำแหน่งข้อที่ 5 นับจากยอดมากกว่าใบกลางในตำแหน่งข้อที่ 3 นับจากยอด ในทุกระดับความเข้มข้นของเกลือที่ได้รับ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang and Becker, 2015 ที่พบว่าใบอ่อนจะมีปริมาณเกลือน้อยกว่าใบแก่ ทำให้ใบแก่ได้รับอิทธิพลจากความเค็มมากกว่าใบอ่อน

3. ผลของความเค็มต่อกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 และนครสวรรค์ 1 เมื่อได้รับความเค็มที่ระดับความเข้มข้น 0 40 80 และ 120 มิลลิโมลาร์ พบว่าความเค็มมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในใบของถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเกลือ และระยะเวลาที่ได้รับความเค็มที่นานขึ้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Figure 6-7) ผลการศึกษาพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในตำแหน่งของใบกลางของข้อที่ 2 นับจากยอด (ใบอ่อน) และใบกลางของข้อที่ 1 นับจากโคน (ใบแก่) ของถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 มีค่ามากกว่าถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในทุกระดับความเข้มข้นของเกลือที่ได้รับ เมื่อถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์ได้รับความเค็มเป็นเวลา 24 วัน พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในใบกลางข้อที่ 1 นับจากโคน (ใบแก่) มีค่ามากกว่าในใบกลางข้อที่ 2 นับจากยอด (ใบอ่อน) ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือ 120 มิลลิโมลาร์ พบว่าถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในใบทั้งสองตำแหน่งมากกว่าถั่วเหลืองที่ได้รับความเค็มในระดับความเข้มข้น 40 และ 80 มิลลิโมลาร์ ซึ่งผลการศึกษานี้

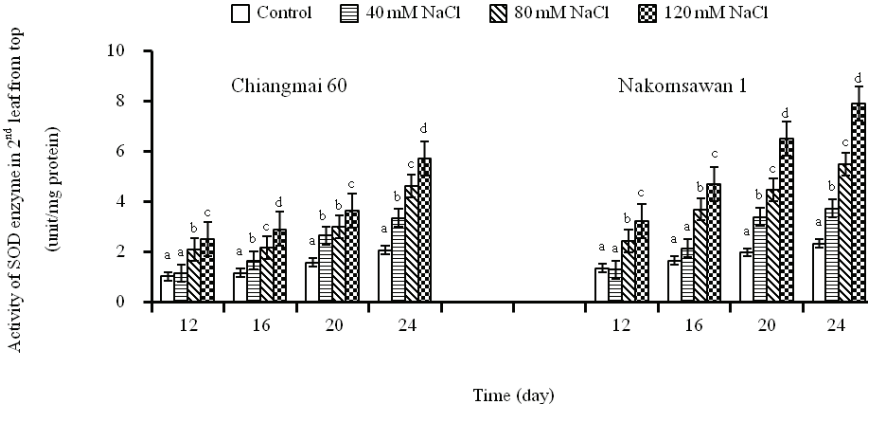

Figure 6 Activity of superoxide dismutase enzyme in 2nd leaf from top (unit/mg protein) of Chiangmai 60 and Nakornsawan 1 soybean under salinity conditions for 24 days. Mean value with a common letter are not significantly different at 5 % level by DMRT ($\bar{I}$: standard error of mean)

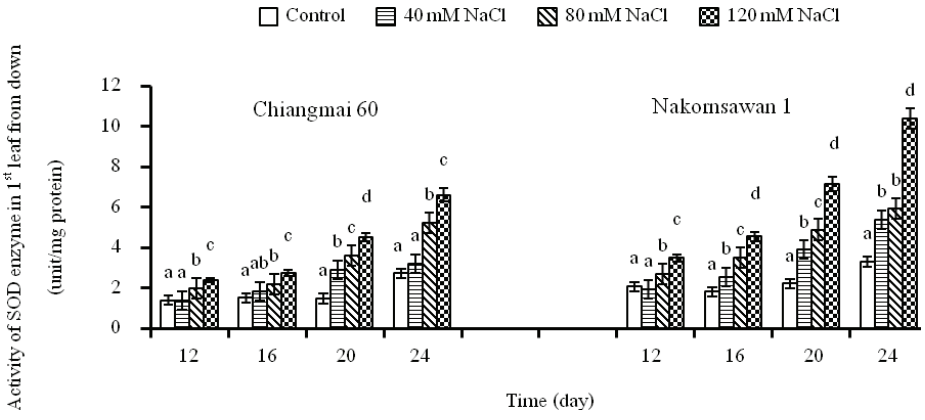

Figure 7 Activity of superoxide dismutase enzyme in 1st leaf from base (unit/mg protein) of Chiangmai 60 and Nakornsawan 1 soybean under salinity conditions for 24 days. Mean value with a common letter are not significantly different at 5 % level by DMRT ($\bar{I}$: standard error of mean)

สอดคล้องกับรายงานของ Oufdou *et al.* (2014) ที่พบว่าถั่วปากอ้า (*Vicia faba* L.) ที่ได้รับโซเดียมคลอไรด์ในที่ระดับความเข้มข้น 75 และ 150 มิลลิโมลาร์ มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD สูงกว่าชุดควบคุม และกิจกรรมของเอนไซม์ SOD มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับความเค็มเพิ่มขึ้น และยังสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ramana *et al.* (2012) ที่ศึกษาผลการตอบสนองของถั่วเหลือง 4 พันธุ์ ได้แก่ MAU-61, LSB-1, NRC-37 และ MACS-5 ต่อความเค็มที่ระดับความเข้มข้นของเกลือ 100 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ พบว่าถั่วเหลืองทั้งสี่พันธุ์ที่ได้รับความเค็มในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มีแนวโน้มกิจกรรมของเอนไซม์ SOD สูงขึ้นและมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

สรุปผลการทดลอง

ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 และพันธุ์นครสวรรค์ 1 ที่ได้รับความเค็มที่ระดับความเข้มข้น 40 80 และ 120 มิลลิโมลาร์ มีแนวโน้มของน้ำหนักแห้งราก ลำต้น และใบ ลดลง ในระดับความเข้มข้นของเกลือและระยะเวลาที่ได้รับความเค็มเดียวกัน พบว่าถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 มีน้ำหนักแห้งของราก ลำต้น และใบ สูงกว่าถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 นอกจากนี้ความเค็มมีผลต่อการสะสมโพรลีนและกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ซึ่งมีแนวโน้มสูงขึ้นในทุกระดับความเข้มข้นของเกลือ ถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์ 1 มีการสะสมโพรลีนและกิจกรรมของเอนไซม์ SOD มากกว่าถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 และพบว่าการสะสมโพรลีนและกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในใบแก่มากกว่าในใบอ่อนของถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์ ผลการศึกษานี้สามารถนำไปใช้

ประโยชน์เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาการตอบสนองทางสรีรวิทยาของถั่วเหลืองที่ได้รับความเค็ม และการคัดเลือกพันธุ์เพื่อปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองทนเค็มต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยบูรพา ที่ได้สนับสนุนการวิจัย ขอขอบคุณดร.ศิริพรรณ บรรหาร ที่คอยให้คำปรึกษาและให้ความช่วยเหลือในการวิจัยมาโดยตลอด และขอขอบคุณคณาอาจารย์ และบุคลากร ของภาควิชาชีววิทยา และวิทยาศาสตร์เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ให้ความรู้และความอนุเคราะห์ในการขอใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ผล

เอกสารอ้างอิง

นวรัตน์ อุดมประเสริฐ. 2558. *สรีรวิทยาของพืชภายใต้ภาวะเครียด*. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 75-104 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. *สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปีเพาะปลูก 2555/2556*. เจ เอ็น ที กรุงเทพฯ. 24 หน้า.

เอิบ เขียวรื่นรมย์. 2551. *ดินเค็มในประเทศไทย*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 5-24 หน้า.

Bates, L. S., R. P. Woldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 31-37.

Dolatabadian, A., S. A. M. Modarressanavy and F. Ghanati. 2011. Effect of salinity on growthxylem structure and anatomical characteristics of soybean. *Notulae Scientia Biologicae* 3: 41-45.

Drindsa, R. S., P. P. Drindsa and T. A. Thorpe. 1981. Leaf senescence : correlated with increase levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. *Experimental Botany* 32: 93-101.

Ganivea, R.A., S.R. Allhverdiyev, N.B. Guseinova, H.I. Kavakli and S. Nafisi. 1998. Effect of salt stress and synthetic hormone polystimuline K on the photosynthetic activity of cotton (Gossypium hirsutum). *J. Botany* 22 : 217-221.

Jacoby, B. 2008. Mechanism involved in salt tolerance by plant. *In Pessaraki M. (ed) Handbook of plant and crop stress.* New York, Marcel Dekker.

Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Far and R. J. Randall. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Biological Chemistry* 193: 265-275.

Molinari, H. B. C., Marur, C. J., Filho, J. C. B., Kobayashi, A. K., Pileggi, M., J nior, R. P. L., Pereira, L. F. P. and Vieira, L. G. E. 2004. Osmotic adjustment in transgenic citrus rootstock Carrizo citrange (Citrus sinensis Osb. x Poncirus trifoliata L. Raf.) overproducing proline. *Plant Science* 167: 1375-1381.

Munns, R. and R.E. Sharp. 1993. Involvement of abscisic acid in controlling plant growth in siols of low water potential. *Aust. J. Plant Physiol.* 20: 425-437.

Oufdou. K., L. Benidire, L. Lyubenova, K. Daoui, A. E. Z. Fatemi and P. Schr der. 2014. Enzymes of the glutathione-ascorbate cycle in leaves and roots of rhizobia inoculated faba bean plants (*Vicia faba* L.) under salinity stress. *Europaean Journal of Soid Biology* 60: 89-103.

Ramana, G.V., S.P. Padhy and K.V. Chaltanya. 2012. Differential response of four soybean (*Glyzine max* (L.)) cultivars to salinity stress. *Legume Res.* 35(3): 185-193.

Reddy, A.R., K.V. Chaitanya and M. Vivekanandan. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Physiology* 161: 1189-1202.

Smirnoff, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytology* 125: 27-58.

Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in theleaves of drought-tolerant P. acutifolius Gray and droughtsensitive P. vulgaris L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Physiology* 161: 1211-1224.

Zhang, L. and D.F. Becker. 2015. Connecting proline metabolism and signaling pathways in plant. *Frontiers Plant Science*. 6: 552-559.