

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้าว (*Oryza sativa*, L.) จัดเป็นธัญพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่งในประเทศไทย ประชากรของไทยที่อาศัยอยู่ตามชนบทส่วนใหญ่ประกอบอาชีพทำนาและมีอาชีพเกี่ยวข้องกับการปลูกข้าวไม่ต่ำกว่า 3.7 ล้านครัวเรือน โดยมีการใช้ที่ดินในการเพาะปลูกข้าวประมาณร้อยละ 59 ของพื้นที่เพาะปลูกของประเทศ นอกจากนี้ประเทศไทยมีการส่งออกข้าวประมาณร้อยละ 31 ของสินค้าเกษตรที่ส่งออกทั้งหมด (มูลนิธิข้าวไทย, 2554) การปลูกข้าวสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มหลักตามการจัดการพื้นที่ปลูกคืออัมพลันด์ (upland) หรือนาที่สูง และโลว์แลนด์ (lowland) หรือนาลุ่ม ข้าวที่ปลูกในสภาพนี้เรียกว่าข้าวนาสวน ทั้งสองระบบมีความแตกต่างกันในเรื่องคุณลักษณะของดิน ตามข้อมูลของกรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กล่าวว่ากลุ่มอัมพลันด์ในประเทศไทยพบได้ทั้งการปลูกในสภาพพื้นที่ลาดชันตามเชิงเขาและสภาพที่ราบสูง เช่นภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ สภาพพื้นที่ส่วนใหญ่ยากต่อการไถเตรียมดินจึงจำเป็นต้องใช้การปลูกแบบหยอดข้าวเป็นหลุมและอาศัยปริมาณน้ำฝนตามธรรมชาติเป็นหลัก ข้าวที่ปลูกในสภาพเช่นนี้เรียกว่าข้าวไร่ Gowda และคณะ (2011) รายงานว่าข้าวไร่ที่สามารถเจริญได้ในพื้นที่ลาดชันและไม่มีน้ำท่วมขังที่ผิวดิน เป็นข้าวที่มีระบบรากลึกและแข็งแรงเนื่องจากการปรับตัวเพื่อเจริญเข้าหาแหล่งน้ำใต้ดิน ลำต้นหนา สูง และมีการแตกกออ่อนโยน ทำให้ข้าวไร่ให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ ในขณะที่ข้าวนาสวนที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาพดินที่มีน้ำขังที่ผิวดินอย่างเหมาะสมจากน้ำฝนตามธรรมชาติหรือน้ำจากระบบชลประทานนั้น พบว่ามีระบบรากตื้น ขนาดเล็กจำนวนมาก ลำต้นมีการแตกกอมาก

ความสำคัญของข้าวพื้นเมืองต่อการปรับปรุงพันธุ์

ข้าวที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายในแถบเอเชียและมีจำหน่ายมากที่สุดในโลกเป็นข้าวที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* ส่วนที่ปลูกในทวีปแอฟริกาเป็นข้าวที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza glaberrima* ในประเทศไทยการปลูกข้าวของเกษตรกรนิยมใช้นิยมใช้ข้าวพันธุ์ผสมหรือข้าวพันธุ์ปรับปรุงอย่างกว้างขวางมากกว่าข้าวพันธุ์พื้นเมือง แม้ว่าข้าวพันธุ์ปรับปรุงอาจมีปัญหาเรื่องความไม่ทนทานต่อโรคหรือสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม แต่ข้าวพันธุ์ปรับปรุงก็ให้ผลผลิตต่อไร่สูงและให้เมล็ดข้าวที่มีคุณภาพดีตามความต้องการของท้องตลาด จากรายงานของ มูลนิธิข้าวไทย (2554) ระบุว่าปัจจุบันมีข้าวพันธุ์ปรับปรุงที่นิยมปลูกอยู่ประมาณ 10-15 พันธุ์ ได้แก่ ชัยนาท1 สุพรรณบุรี1 ปทุมธานี1 พิษณุโลก2 และข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 ในขณะที่ปัจจุบันข้าวพื้นเมืองหาได้ยากมากและมีการปลูกเฉพาะบนภูเขาทางภาคเหนือเป็นส่วนใหญ่ ข้าวไร่พื้นเมืองมีความหลากหลายมาก เนื่องจากเกิดจากการเพาะพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์ข้าวโดยเกษตรกรในท้องถิ่นเพื่อให้ได้ข้าวไร่ที่มีความต้านทานโรคและแข็งแรงทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความแล้ง ดินเปรี้ยว ดินเค็ม และน้ำท่วมฉับพลันได้ การปลูกข้าวไร่ส่วนใหญ่อาศัยน้ำฝนตามธรรมชาติและมักไม่ได้ให้ปุ๋ยเพิ่มเติม ทำให้ข้าวไร่ให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำและเมล็ดข้าวด้อยคุณภาพ อย่างไรก็ตามในการปลูกข้าวไร่ให้ได้ผลผลิตที่ดีทำได้โดยการให้ปุ๋ยไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเพิ่มเข้าไป โดยข้าวไร่ที่ทดสอบปลูกในภาคเหนือของประเทศไทยมีการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนได้ดี (Saito และคณะ, 2006) ดังนั้นข้าวไร่พื้นเมืองจึงถูกจัดว่ามีความสามารถต้านทานต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆได้ดี รวมทั้งในสภาพพื้นที่ที่มีวัชพืชเจริญร่วมด้วย เช่นงานวิจัยที่ทำการทดลองปลูกข้าวไร่พันธุ์ปรับปรุงชนิด *indica* โดยไม่มีการฉีดยาฆ่าวัชพืชในพื้นที่แอ่งภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า

สามารถเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ที่มีวัชพืชเจริญร่วมอยู่ด้วยได้ และให้ผลผลิตดีกว่าข้าวนาสวน (Saito และคณะ, 2010)

ข้าวแต่ละพันธุ์มีลักษณะทางพันธุกรรมข้าวที่ความแตกต่างกัน ซึ่งพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองและข้าวพันธุ์ปรับปรุงก็มีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวด้วยกันทั้งสิ้น การทำนาโดยปลูกเฉพาะข้าวพันธุ์ปรับปรุงและไม่มีการอนุรักษ์ข้าวพันธุ์พื้นเมืองอาจทำให้ฐานพันธุกรรมของพันธุ์ข้าวไทยแคบลง ส่งผลให้สายพันธุ์กรรมที่ดี เช่น เรื่องของความต้านทานโรคและความทนทานสูญหายไป การปรับปรุงพันธุ์ข้าวของไทยเริ่มต้นเมื่อปี 2512 โดยนักวิจัยจากกรมการข้าวได้ทำการผสมข้าวพันธุ์เหลืองทองกับข้าวพันธุ์ IR8 (พัฒนามาจากสถาบัน IRRI) ได้ข้าวภข1 ซึ่งเป็นข้าวที่ใช้ผลิตต่อไร่สูงพันธุ์แรกของไทย คำย่อ ภข มาจากคำว่า กรมการข้าว ต่อมาได้มีการปรับปรุงพันธุ์ข้าวอย่างต่อเนื่องได้แก่ ภข2 ภข3 เรื่อยมาจนถึง ภข27 ภายหลังได้ปรับเปลี่ยนวิธีการตั้งชื่อข้าวพันธุ์ปรับปรุงใหม่ตามชื่อสถานีวิจัย ได้แก่ ข้าวชัยนาท1 และสุพรรณบุรี1 (มูลนิธิข้าวไทย, 2554)

จากการปลูกข้าวที่ผ่านมาพบว่าข้าวควรต้องมีการปรับปรุงพันธุ์อย่างสม่ำเสมอ เพราะข้าวพันธุ์เดิมที่ให้เมล็ดข้าวคุณภาพดีและผลผลิตสูง เมื่อปลูกไประยะหนึ่งไม่เกิน 5 ปีมักเกิดโรคและแมลงเข้าทำลายได้ง่าย เนื่องจากการปลูกข้าวพันธุ์เดียวกันอย่างหนาแน่นเป็นบริเวณกว้างส่งผลให้มีการระบาดของโรคและแมลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งทำให้เกษตรกรต้องใช้ปุ๋ยและยามากขึ้นด้วย ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้าวที่เหมาะสมต่อสภาพแวดล้อมและให้ผลผลิตดีต้องอาศัยพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองด้วย การรวบรวมข้าวพันธุ์พื้นเมืองเป็นสิ่งสำคัญในการอนุรักษ์สายพันธุ์กรรมที่ดีและเป็นการรวบรวมเชื้อพันธุกรรม (Germplasm) เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกและพัฒนาสายพันธุ์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวในอนาคต (วิรุทธ และ จิรวัดน์, 2554) สิ่งที่ต้องคำนึงต่อมาคือการประเมินเชื้อพันธุกรรมข้าวไรเพื่อให้ได้ข้อมูลสำคัญต่างๆ สำหรับนำไปใช้ประโยชน์ด้านปรับปรุงพันธุ์ข้าว ได้แก่ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ข้อมูลทางด้านการเจริญเติบโต ปริมาณผลผลิต และการคัดเลือกข้าวที่ทนต่อสภาวะต่างๆได้ เป็นต้น ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นได้ทำการรวบรวมพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่เกษตรกรปลูกทั้งข้าวนาสวนและข้าวไร่ เพื่อเป็นแหล่งรวบรวมเชื้อพันธุกรรมสำหรับการศึกษาวิจัยทางด้านต่างๆ ของนักวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยขณะนี้ได้มีการดำเนินการวิจัยเกี่ยวกับข้าวไร่บางสายพันธุ์ที่ได้จากการเก็บรวบรวมไว้ เช่น สัณฐานวิทยาของข้าว และการศึกษาความทนทานต่อการเกิดโรคใบไหม้ของข้าวไร่ เป็นต้น

การตอบสนองข้าวต่อความเครียดจากภาวะขาดน้ำและดินเค็ม

การปลูกข้าวแม้ว่าจะมีทั้งสภาพพื้นที่ชุ่มน้ำสำหรับข้าวนาสวนหรือสภาพพื้นที่ในการปลูกข้าวไร่ สภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมอาจเกิดขึ้นได้กับการปลูกข้าวทั้งสองชนิด เช่นภาวะแล้ง ภาวะดินเค็มและน้ำท่วม เมื่อพืชได้รับภาวะขาดน้ำในช่วงแรกพืชจะมีการตอบสนองเพื่อปรับตัว เช่น การปิดปากใบ เมื่อมีการปิดปากใบเพื่อลดการสูญเสียน้ำ ช่วงนี้พืชจะมีแรงดึงจากการคายน้ำน้อยลง รากมีการดูดน้ำได้ช้า ทำให้มีการม้วนและการเหี่ยวของใบ นอกจากนี้การนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่ใบก็เกิดขึ้นช้าลงส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชลดลง มีผลทำให้การเจริญเติบโตของข้าวและผลผลิตลดลง โดยถ้าได้รับภาวะขาดน้ำอย่างรุนแรงเป็นเวลานานก็อาจทำให้ข้าวตายได้ พืชกลุ่มที่สามารถเจริญได้ในภาวะแล้งนั้นถือว่ามีศักยภาพที่สามารถปรับตัวให้ดำรงอยู่ในภาวะขาดน้ำได้ดี เช่นในการดูดน้ำไปใช้ในกระบวนการต่างๆ มีระบบการดูดน้ำจากภายในดินเข้าสู่รากที่ดี มีกลไกการจัดการน้ำภายในลำต้นที่ดีทำให้สูญเสียน้ำออกไปได้น้อย (Kamoshita

และคณะ, 2008) และสิ่งสำคัญที่ทำให้ข้าวสามารถทนต่อภาวะแล้งได้ดี คือการมีระบบรากที่ดี จากรายงานวิจัยพบว่าเมื่อนำข้าวพันธุ์สมระหว่างข้าวไร่ที่ทนต่อภาวะแล้ง 2 พันธุ์คือ Bala (*indica*) และ Azucena (*japonica*) ไปศึกษาเพื่อหาดัชนีที่บ่งบอกศักยภาพในการหลีกเลี่ยงความแล้ง (Drought avoidance) ระบบรากมีลักษณะที่ดีคือ ยาว หนา น้ำหนักหรือปริมาตรมาก แข็งแรงและเจริญแทรกผ่านชั้นดินดี และสามารถหยั่งลึกได้ดี รวมทั้งเมื่อได้รับภาวะแล้งข้าวพันธุ์สมนี้มีการม้วนของใบ มีบางใบแห้ง และมีปริมาณน้ำสัมพัทธ์สูง (Cairns และคณะ, 2009)

ภาวะแล้งที่เกิดขึ้นอาจก่อให้เกิดภาวะเค็มขึ้นได้ในบางพื้นที่เนื่องจากน้ำเป็นตัวทำละลายที่ดี โดยถ้ามีภายในดินมีน้ำมาก เกลือจะถูกละลายได้ดีอยู่ในชั้นดิน แต่เมื่อพื้นที่เพาะปลูกอยู่ในสภาวะขาดน้ำไปในระยะเวลาหนึ่งก็อาจส่งผลให้พื้นที่บริเวณนั้นมีปริมาณเกลือที่ผิวดินเพิ่มขึ้น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อพืชที่เจริญในบริเวณนั้นให้ขาดน้ำและได้รับอิออนของธาตุที่ทำให้เกิดดินเค็มเข้าไปในเซลล์ด้วย ภาวะดินเค็มจึงเป็นปัญหาสำคัญประการหนึ่ง โดยปัญหาดินเค็มนี้จะทวีความรุนแรงมากขึ้นในช่วงที่มีภาวะแล้งร่วมด้วย นอกจากนี้ยังทำให้พืชขาดธาตุบางชนิด เช่น สังกะสี (Zn) และ ฟอสฟอรัส (P) ได้ และทำให้พืชได้รับความเป็นพิษจากธาตุชนิดต่างๆร่วมด้วย เช่น เหล็ก (Fe) และอลูมิเนียม (Al) (Gregorio และคณะ, 2002) ดังนั้นกล่าวโดยสรุปได้ว่าความเค็มทำให้พืชได้รับผลกระทบหลัก 4 ประการคือ (1) น้ำในดินมีค่าพลังงานศักย์ของน้ำที่เกิดจากความเข้มข้นของตัวถูกละลาย (osmotic potential) ต่ำลง หรือทำให้เกิดภาวะขาดน้ำ (2) ทำให้มีการขาดธาตุบางชนิด (3) อีออนบางชนิดทำอันตรายต่อพืช และ (4) ผลรวมจากทุกผลกระทบ ซึ่งปัจจัยทั่วไปที่ใช้เป็นดัชนีในการคัดเลือกพืชทนเค็ม สามารถดูได้จากผลผลิต อัตราการรอดชีวิต ความสูง พื้นที่ใบ บาดแผลที่ใบหรือการตายของเนื้อเยื่อใบ และอัตราการเจริญเติบโต (Ashraf และ Harris, 2004) กลไกในการทนต่อความเค็มมีความแตกต่างกันตามชนิดของพืช และพืชชนิดเดียวกันก็อาจมีความแตกต่างกันตามสายพันธุ์ได้ เมื่อปลูกข้าวในบริเวณพื้นที่ดินเค็มซึ่งข้าวถูกจัดว่าเป็นพืชที่มีความอ่อนแอต่อความเค็มระดับปานกลาง (Moderately sensitive) (Gregorio และคณะ, 1997) ต้นข้าวจึงมีการเจริญเติบโตได้ไม่ดีและทำให้ได้ผลผลิตต่อไร่ต่ำกว่าปกติ ความเค็มที่เกิดขึ้นนั้นเป็นผลเนื่องมาจากการสะสมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ปริมาณมากในดิน ซึ่งพืชส่วนใหญ่สามารถดูดซึมธาตุเหล่านี้เข้าสู่ต้นพืชได้ และถ้ามีการสะสมที่มากเกินไปก็อาจเป็นพิษต่อพืช

Ashraf และ Harris (2004) ได้รื้อวิธีการปรับตัวของพืชเพื่อให้เซลล์ไม่ได้รับอันตรายต่อการสะสมอีออนหรือให้สามารถอยู่รอดได้ในภาวะเครียด หลายวิธี ดังนี้

1) การสะสมตัวถูกละลาย

การสะสมตัวถูกละลายชนิดต่างๆภายในเซลล์ เพื่อใช้ในการปรับค่าออสโมติกของเซลล์ ซึ่งมีทั้งอีออนอนินทรีย์ (inorganic ion) และตัวถูกละลายประเภทสารอินทรีย์ขนาดเล็ก (low molecular weight organic solutes) ตัวถูกละลายที่มักพบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นมากเมื่อพืชชั้นสูงได้รับภาวะเค็ม ได้แก่ น้ำตาล สารอินทรีย์ สารกลุ่มโพลีออลส์ (polyols) สารประกอบที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น กรดอะมิโน และโปรตีน การสะสมสารเหล่านี้มีความแตกต่างกันไปตามชนิดของพืช พันธุ์พืช และการปลูกในสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน

1. น้ำตาลที่ละลายน้ำได้ น้ำตาลโมเลกุลเล็กที่พบมากได้แก่ ซูโครส กลูโคส ฟรุคโตส รวมทั้งอาจพบ แป้ง ในพืชที่มีความทนต่อความเค็มมากจะพบว่ามีการสะสมน้ำตาลมากที่สุดถึงร้อยละ 50 ของ ตัวถูกละลายชนิดอื่น
2. โปรตีนที่ละลายน้ำได้ แบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ โปรตีนที่สร้างขึ้นมากเมื่อได้รับภาวะเค็ม และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อภาวะเครียดชนิดอื่นๆด้วยนอกจากความเค็ม โปรตีนที่สะสมมากนี้ กลายเป็นแหล่งของไนโตรเจนเมื่อพืชได้รับภาวะเค็มเป็นเวลานานและอาจมีความสัมพันธ์กับการปรับค่าความเข้มข้นของตัวถูกละลายในข้อ 1 ด้วย
3. กรดอะมิโน ในพืชชั้นสูงกรดอะมิโนสำคัญที่สะสมมากเมื่อได้รับภาวะเค็ม คือ อะลานีน (alanine) อาร์จินีน (arginine) ไกลซีน (glycine) เซอริน (serine) ลิวซีน (leucine) และวาเลีน (valine) รวมทั้ง โพรลีน (proline) ที่พบว่ามี การสะสมมากขึ้นเมื่อพืชหลายชนิดได้รับภาวะเครียด โดยโพรลีนอาจเกี่ยวข้องกับสะสมไนโตรเจนภายในเซลล์ การรักษาสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ และเป็นโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณกระบวนการตอบสนองของพืช (Gadallah, 1999; Maggio และคณะ, 2002 และ Demiral and Turkan, 2005) อย่างไรก็ตามมีรายงานเสนอว่า โพรลีนเป็นโมเลกุลที่อาจมีส่วนทำให้เซลล์พืชได้รับความเสียหายมากขึ้น
4. โพลีเอมีน (Polyamine) เป็นสารประกอบที่มีหมู่อะมิโนมากกว่าหรือเท่ากับสองหมู่ขึ้นไป ได้แก่ พิวเทรสซีน (putrescine) สเปอโรมิดีน (spermidine) และสเปอโรมิน (spermine) สารประกอบนี้มีหน้าที่คล้ายฮอร์โมนพืชที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ การยืดตัวของเซลล์และการเสื่อมชราของเซลล์ (Ndayiragije and Lutts, 2006)
5. โพลีออลส์ (polyols) เป็นโมเลกุลประเภทโพลีไฮดริค แอลกอฮอล์ (Polyhydric alcohol) มีหลายประเภทได้แก่ แมนนิทอล (mannitol) กลีเซอรอล (glycerol) และซอร์บิทอล (sorbitol) มีส่วนเกี่ยวข้องกับการปรับค่าออสโมติกในเซลล์ซึ่งเป็นบทบาทสำคัญที่ทำให้พืชทนต่อความเค็ม และมีส่วนช่วยในการทำลายอนุมูลอิสระ

2) สารกำจัดอนุมูลอิสระ (antioxidants)

เมื่อพืชอยู่ในภาวะเครียดจะทำให้การตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ลดลง ส่งผลให้คลอโรพลาสต์มีพลังงานกระตุ้นให้อิเล็กตรอนของรงควัตถุอยู่ในสภาวะกระตุ้นมากเกินไป โดยเฉพาะภายใต้ภาวะที่มีความเข้มแสงมาก ภาวะเช่นนี้จะเกิดเพิ่มขึ้นเมื่อพืชยังคงได้รับแสงอยู่เรื่อยๆ ถ้าพลังงานเหล่านี้ไม่ถูกถ่ายทอดไปยังตัวรับอิเล็กตรอนตัวอื่นๆในระบบรับแสง (Photosystem) ก็จะมีการถ่ายทอดพลังงานให้กับออกซิเจน เกิดเป็นออกซิเจนในสภาวะกระตุ้นที่เรียกว่า ซิงเก็ท ออกซิเจน (singlet oxygen; 1O_2) ขณะเดียวกันเมื่อการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง จะส่งผลให้มีการนำ NADPH ที่ได้จากกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนไปใช้ช้าลง ส่งผลให้มี $NADP^+$ กลับมารับอิเล็กตรอนใหม่ไม่เพียงพอ เกิดการขาดแคลนตัวรับอิเล็กตรอนจึงมีการถ่ายทอดอิเล็กตรอนให้กับตัวรับอิเล็กตรอนอื่น เช่น ออกซิเจน เกิดเป็นรีแอคทีฟ ออกซิเจน สปีชีส์ (reactive oxygen species; ROS) มีหลายชนิด เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide; O_2^-) ซึ่งจะถูกกำจัดไปอย่างรวดเร็วทำให้เปลี่ยนรูปเป็น ไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide; H_2O_2) และไฮดรอกซิล แรดิคัล (hydroxyl radical; $OH^\cdot$) ที่มีความเป็นพิษมากขึ้น (Smirnoff, 1993; Tsai และคณะ, 2005)

การสร้างและการสะสมรีแอกทีฟ ออกซิเจน สปีชีส์นำไปสู่การเกิดการทำลายไขมันที่เยื่อหุ้มต่างๆของเซลล์ (lipid peroxidation) ที่มีลักษณะเป็นไขมัน 2 ชั้น (lipid bilayer) ทั้งเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์ โดยเฉพาะไขมันที่เยื่อหุ้มคลอโรพลาสต์และไทลาคอยด์เพราะภายในคลอโรพลาสต์มีความเข้มข้นของออกซิเจนสูง ทำให้พืชที่ได้รับภาวะเครียดมีปริมาณรงควัตถุลดลง (Zayed และ Zeid, 1997,1998; Demiral และ Turkan, 2004, 2005, 2006; Cha-Um และคณะ, 2009; Zhou และคณะ, 2009) ดังนั้นพืชจึงต้องมีกลไกการป้องกันตัวต่างๆจากการทำลายของรีแอกทีฟ ออกซิเจน สปีชีส์ พืชมีกลไกการป้องกันตัวที่ประกอบด้วยสารกำจัดอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzymic antioxidants) ได้แก่ แอสคอร์เบท (ascorbate) หรือวิตามินซี กลูตาไทโอน (glutathione) และแคโรทีนอยด์ (carotenoids) และสารกำจัดอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ (enzymic antioxidants) ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase) คตะเลส (Catalase) เพอร์ออกซิเดส (Peroxidase) กลูตาไทโอน รีดักเทส (Glutathione reductase) และแอสคอร์เบทเพอร์ออกซิเดส (Ascorbate peroxidase) (Demiral และ Turkan, 2004, 2005, 2006; Sawada และคณะ, 2008; Ashraf, 2009) จากการทดลองเปรียบเทียบการสร้างเอนไซม์ที่เป็นสารกำจัดอนุมูลอิสระที่มีเพิ่มมากขึ้นในข้าวทนเค็มและข้าวไม่ทนเค็มที่ได้รับสภาวะเค็ม พบว่าข้าวพันธุ์ไม่ทนเค็ม 2 พันธุ์ คือ Hitomebore และ IR28 มีกิจกรรมของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสลดลง และมีกิจกรรมของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสเพิ่มขึ้น การเกิดการทำลายไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์มากขึ้น เกิดการสะสมโซเดียมไอออน (Na^+) ในใบข้าวเพิ่มขึ้น ซึ่งต่างจากข้าวพันธุ์ทนเค็ม Pokkali ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสเพิ่มขึ้นแต่มีกิจกรรมของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดสลดลงเล็กน้อย โดยเกิดการทำลายไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์และเกิดการสะสม Na^+ ในใบข้าวน้อยมาก (Dionisiosese และ Tobita, 1998)

3) เอนไซม์เอทีพีเอส (ATPases)

เอนไซม์เอทีพีเอส (ATPases) โปรตีนชนิดนี้มีบทบาทในการควบคุมการขนส่งไอออนเมื่อพืชได้รับสภาวะเค็ม ทำให้เกิดการสะสมไอออนต่างๆในบริเวณของเซลล์อย่างเหมาะสมและลดอันตรายให้กับเซลล์ โปรตีนที่มีความสำคัญในกลุ่มนี้คือโปรตีนที่เยื่อหุ้มเซลล์ที่ทำหน้าที่เป็นช่องทางให้ Na^+ และ K^+ ผ่านเข้าออกเซลล์ ได้แก่

1. primary H^+ -ATPase เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการขนส่ง H^+ ผ่านเยื่อหุ้ม (membrane) โดยอาศัยความแตกต่างของประจุระหว่างสองด้านของเยื่อหุ้ม ซึ่งส่งผลให้เกิดแรงขับในการขนส่งไอออนบวกของธาตุต่างๆ
2. Na^+ / H^+ antiporter บนเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane) เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการขนส่ง Na^+ ส่วนเกินที่เข้ามาภายในเซลล์ออกนอกเซลล์
3. Na^+ / H^+ antiporter บนเยื่อหุ้มแวคิวโอล (tonoplast) เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการขนส่ง Na^+ ส่วนเกินเข้ามาภายในเซลล์ไปเก็บไว้ในแวคิวโอล (vacuole) ซึ่งการเก็บสารที่ไม่ต้องการไว้ในแวคิวโอลนี้เป็นกลไกอย่างหนึ่งในการลดอันตรายที่เกิดจากสิ่งที่เป็นพิษต่อเซลล์
4. โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งไอออนประจุบวก โดยเฉพาะโพแทสเซียมไอออน (K^+) ให้ได้ปริมาณมากกว่า Na^+ เพื่อรักษาสมดุลภายในเซลล์ (Zhu และ Shi, 2002)

Na^+ เป็นไอออนที่สามารถผ่านเข้าเซลล์ได้โดยไม่ต้องอาศัยพลังงาน เป็นการขนส่งไอออนจากสารละลายภายนอกที่มี Na^+ มากกว่าผ่านช่องของโปรตีนเข้าสู่ภายในเซลล์ เพื่อเป็นการรักษาสมดุลภายใน

ไซโตพลาสซึมของเซลล์ ในกรณีนี้พืชจะมีการปรับตัวโดยการขับ Na^+ ส่วนเกินออกภายนอกเซลล์ผ่านทาง โปรตีน Na^+/H^+ antiporter ซึ่งเป็นการขนส่งที่ต้องอาศัยพลังงานในการขับออกเพราะภายนอกมี Na^+ พืช ทนเค็มส่วนใหญ่จะมีการสะสม Na^+ ภายในเซลล์ต่ำ ซึ่งอาจเกิดจากการขับ Na^+ ออกจากเซลล์ หรือการขนส่ง Na^+ ส่วนเกินเข้ามาภายในเซลล์ไปเก็บไว้ในแวคิวโอล นอกจาก Na^+ แล้วพืชยังใช้กลไกเดียวกันในการขนส่ง Cl^- ออกไปภายนอกเซลล์หรือนำไปเก็บไว้ในแวคิวโอลได้ด้วยการขนส่งไปพร้อมๆกับการเคลื่อนย้าย H^+ ผ่านเยื่อหุ้มตามความแตกต่างของประจุระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์หรือเยื่อหุ้มแวคิวโอล นอกจากนี้พบว่าพืชบางชนิดสามารถควบคุมการขนส่ง Na^+ และ Cl^- เข้าสู่เซลล์ได้ด้วย

4) ค่าสัดส่วน Na^+ และ K^+ (Na^+/K^+ ratio) เมื่อได้รับภาวะเค็ม

รายงานวิจัยพบว่าการตัดต่อยีนให้พืช *Arabidopsis* มะเขือเทศ และพืชตระกูลผัก มีการแสดงออกของ Na^+/H^+ antiporter บนเยื่อหุ้มแวคิวโอล มากขึ้นจะทำให้มีการขนส่ง Na^+ ไปเก็บในแวคิวโอลมากขึ้น และทำให้พืชเหล่านี้มีความทนต่อภาวะเค็มมากขึ้น (Aharon และคณะ, 2003) อีกกลไกหนึ่งที่สำคัญในการปรับตัวของพืช คือพืชที่ได้รับภาวะเค็มจะพยายามรักษาสัดส่วนระหว่าง Na^+ และ K^+ ให้มีค่าต่ำ กล่าวคือจะมีกลไกให้ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์มีความเข้มข้นของ Na^+ ต่ำแต่พยายามเพิ่มการสะสม K^+ ภายในเซลล์ ทำให้ค่าสัดส่วนระหว่าง Na^+ และ K^+ นี้จัดเป็นค่าที่เหมาะสมที่สุดค่าหนึ่งที่สามารถบ่งบอกถึงศักยภาพในความทนทานต่อภาวะเค็มของพืชร่วมกับลักษณะอาการภายนอกของพืชได้ (Gregorio และคณะ, 1997; Zhu และ Shi, 2002; Aleman และคณะ, 2009) สอดคล้องกับงานวิจัยในข้าว ในการสร้างข้าวตัดต่อพันธุกรรม ซึ่งเรียกว่า transgenic rice โดยใช้ข้าวพันธุ์ *Oryza sativa* cv. *Kinuhikari* มาทำการตัดต่อยีนใส่เข้าไป ยีนนี้ทำหน้าที่สร้าง Na^+/H^+ antiporter บนเยื่อหุ้มแวคิวโอลซึ่งได้มาจากพืชทนเค็ม (halophyte) ชื่อว่า *Atriplex gmelini* พบว่าข้าวตัดต่อพันธุกรรมที่ได้มีการแสดงออกของยีนที่ตัดต่อเข้าไปมากกว่าปกติ 8 เท่า และสามารถรอดชีวิตได้ในภาวะเค็มที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 mM เป็นเวลา 3 วันในขณะที่พันธุ์ปกติไม่รอดชีวิต (Ohta และคณะ, 2002) มีงานวิจัยที่ให้ผลลักษณะคล้ายกันคือทำการตัดต่อยีนของยีสต์ชื่อว่า *SOD2* ใส่เข้าไปในข้าว ยีนนี้ทำหน้าที่ในการสร้างโปรตีน Na^+/H^+ antiporter บนเยื่อหุ้มเซลล์ ข้าวที่มียีนนี้เพิ่มเข้าไปมีความทนต่อความเค็มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับข้าวพันธุ์ปกติ โดยพบว่าการสะสม Na^+ ต่ำ แต่มีการสะสม K^+ Ca^{2+} และ Mg^{2+} ในส่วนต้นเพิ่มขึ้น (Zhao และคณะ, 2006) นอกจากนี้มี Zhou และคณะ (2009) ได้ทำการสร้างข้าวตัดต่อพันธุกรรมที่มีการใส่ยีน *TaSTRG* จากข้าวสาลี (*Triticum aestivum*) ซึ่งเป็นยีนที่มีการศึกษามาแล้วว่ามีความสัมพันธ์กับความทนเค็มในข้าวสาลี ข้าวที่ได้มีการแสดงออกของยีน *TaSTRG* ปริมาณมากซึ่งแสดงทั้งความทนเค็มและแล้งมากกว่าข้าวพันธุ์ควบคุม โดยพบข้าวตัดต่อพันธุกรรมที่ปลูกในภาวะเค็มใช้สารละลายธาตุอาหารที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 175 mM เป็นเวลา 7 วัน ตามด้วยปลูกในภาวะปกติ ระดับสัดส่วนของ Na^+ และ K^+ ต่ำ มีอัตราการรอดสูง น้ำหนักสดมาก ปริมาณรงควัตถุมาก และมีการสะสมโปรตีนและน้ำตาลมาก เมื่อเทียบกับข้าวพันธุ์ควบคุม

ข้าวแต่ละพันธุ์มีศักยภาพในความทนเค็มและมีกลไกในการรักษาสสมดุลของ Na^+ และ K^+ ในระดับที่แตกต่างกัน การคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ที่มีความทนทานต่อภาวะเค็มจึงมีความสำคัญต่อการศึกษาเพื่อให้เข้าใจกลไกการปรับตัวของข้าวและเป็นพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว Gregorio และคณะ (1997) รายงานว่าระหว่างการศึกษาเจริญเติบโตของข้าวตั้งแต่การงอกไปจนถึงการออกรวง ข้าวจะมีความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมได้ไม่

เท่ากัน โดยช่วงที่กำลังมีการออกจะเป็นช่วงที่มีหนามากและจะอ่อนแอลงในระยะต้นกล้าเมื่อมีใบอ่อนประมาณ 2-3 ใบ และเสนอว่าในการศึกษาการตอบสนองของต้นข้าวต่อภาวะเครียดจากความเค็ม โดยใช้สารละลายธาตุอาหารสูตร Yoshida ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ สามารถเห็นผลได้ดีในระยะต้นกล้า นอกจากนี้ในการปลูกพืชในระยะนี้สามารถควบคุมง่ายและสะดวกกว่าในระยะอื่น ข้าวไร่พื้นเมืองสามารถเจริญเติบโตได้ในพื้นที่ราบเชิงเขาซึ่งเป็นลักษณะสำคัญที่บ่งบอกว่าข้าวไร่นั้นมีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และแม้ว่าข้าวไร่มีความสามารถในการทนแล้งสูงแต่ยังไม่มีการศึกษาถึงศักยภาพของเชื้อพันธุกรรมข้าวไร่ในความทนทานต่อภาวะเครียดเนื่องจากความเค็ม งานวิจัยนี้จะดำเนินการทดลองตาม Gregorio และคณะ (1997) โดยมีหลักการว่าข้าวไร่แต่ละสายพันธุ์น่าจะมีความทนทานต่อภาวะเค็มที่แตกต่างกัน โดยจะทำให้มีการแสดงอาการตอบสนองที่แตกต่างกันเมื่อเทียบกับตารางมาตรฐานดังตารางที่ 2.1 และลักษณะการตอบสนองของพืชก็จะเป็นไปในทิศทางเดียวกับการสะสม Na^+ และ K^+ ด้วย โดยค่าสัดส่วน Na^+/K^+ ที่มีค่าต่ำจะสัมพันธ์กับความทนต่อภาวะเค็มตัวอย่างเช่น ข้าวพันธุ์ทนเค็ม SR26B มีค่าความทนเค็มเท่ากับ 3.5 (ค่อนข้างทนเค็ม) จะมีค่าสัดส่วน Na^+/K^+ เท่ากับ 0.159 ในขณะที่ ข้าวพันธุ์ IR 28 มีค่าความทนเค็มเท่ากับ 7.0 (อ่อนแอต่อความเค็ม) จะมีค่าสัดส่วน Na^+/K^+ เท่ากับ 0.359 เป็นต้น เมื่อทราบระดับความทนเค็มของข้าวไร่ที่ทดสอบแล้วก็นำค่าที่ได้ทั้งหมดไปประมาณผลเพื่อจัดกลุ่มระดับความทนเค็ม โดยในอนาคตอาจนำไปสู่การศึกษาถึงปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องกับศักยภาพความทนเค็มของข้าว เช่น การสะสมสารโปรตีนและ/หรือสารในกลุ่มโพลีเอมีน และการกระตุ้นการแสดงออกของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสารอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังสามารถใช้ข้าวไร่จากระดับความทนต่าง ๆ ที่ได้จำแนกไว้จากงานวิจัยนี้มาเป็นตัวแทนในการวิจัยเพื่อเปรียบเทียบกับข้าวชนิดอื่น เช่น ข้าวหอมมะลิไทย เป็นต้น

ตารางที่ 2.1 ค่าคะแนนมาตรฐานที่ใช้ตรวจสอบระดับความทนเค็มของข้าวในระยะต้นกล้า (ที่มา: Gregorio และคณะ, 1997)

ค่าคะแนน	ระดับความทนเค็ม	ลักษณะของพืช
1*	ทนเค็มค่อนข้างมาก (Highly tolerant)	การเจริญเติบโตปกติ ใบพืชไม่แสดงอาการใดๆ
3	ทนเค็ม (Tolerant)	การเจริญเติบโตเกือบปกติ ปลายใบหรือใบบาง ใบเหลืองและม้วน
5	ทนเค็มปานกลาง (Moderately Tolerant)	การเจริญเติบโตหยุดชะงัก ใบส่วนใหญ่ม้วน มีบางใบยังคงเจริญได้
7	อ่อนแอต่อความเค็ม (Sensitive)	การเจริญเติบโตหยุดชะงัก ใบส่วนใหญ่แห้ง พบต้นข้าวบางต้นตาย
9	อ่อนแอต่อความเค็มค่อนข้างมาก (Highly Sensitive)	ต้นข้าวกำลังจะตายหรือตายทั้งหมด

* หมายเหตุ ถ้าลักษณะของพืชอยู่ระหว่างค่าคะแนนใดจะให้เป็นตัวเลขที่อยู่กึ่งกลาง เช่น ลักษณะของพืชอยู่ระหว่าง 1 และ 3 ก็จะได้ค่าคะแนนเป็น 2 เป็นต้น