บทที่ 2
วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

1.1 แหล่งกำเนิดและการเพาะปลูก

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประชากรเกือบครึ่งโลก ข้าวที่นิยมปลูกกันมากจะเป็นข้าวป่า (wild species) (Komatsu et al., 2003) อย่างไรก็ตามจะมีข้าวเพียง 2 ชนิดที่นิยมปลูกเพื่อใช้บริโภคเป็นอาหาร คือ *O. sativa* และ *O. glaberrima* ซึ่งข้าวพันธุ์ *O. sativa* พบการปลูกครั้งแรกในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ประเทศอินเดียและจีนในช่วง 8000-15000 ปีที่ผ่านมา ในขณะที่ข้าวพันธุ์ *O. glaberrima* มีการเพาะปลูกมาตั้งแต่ 1000 ปี ก่อนคริสตกาล (Ahn et al., 1992; Murray, nd) สายพันธุ์ข้าวที่เพาะปลูกกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบันคือข้าวสายพันธุ์ *O. sativa* ซึ่งแผ่ขยายมาจากละติจูดที่ 35 ^{o}S (New Southern Wales และ Argentina) ถึง 50 ^{o}N (ทางภาคเหนือของจีน) พบการเพาะปลูกมากกว่า 110 ประเทศ ข้าวจะเจริญเติบโตที่ระดับน้ำทะเล ที่ 3,000 เมตร และสามารถเจริญได้ดีทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น โดยมีพื้นที่เพาะปลูกประมาณ 10% ของพื้นที่เพาะปลูกทั้งหมด (144 million ha) โดยส่วนใหญ่จะปลูกข้าวสาลีเป็นหลัก หากใช้ความแตกต่างของระดับความลึกของน้ำที่ข้าวขึ้นอยู่ สามารถแบ่งข้าวได้เป็น 3 ประเภทคือ ข้าวไร่ (upland rice) (มี 10% ของการเพาะปลูกทั้งหมด) ข้าวนาสวน (lowland rice) (น้ำจากชลประทาน 45%, และน้ำจากน้ำฝน 30%) และข้าวขึ้นน้ำ (ระดับน้ำสูงกว่า 6 m 11% หรือข้าวฟางลอย 4%) ข้าวสามารถเติบโตได้ในดินหลายชนิด ประกอบด้วย ดินเค็ม ดินด่าง และดินกรดกำมะถัน (Ahn et al., 1992) ข้าวเป็นธัญพืชที่จัดว่าสามารถทนเค็มได้เพราะสามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีน้ำท่วมขังและน้ำที่อยู่ในนาข้าวสามารถชะล้างเกลือออกจากผิวหน้าดินทำให้มีระดับความเข้มข้นของเกลือต่ำลงและทำให้พืชสามารถเจริญได้ (Bhumbla and Abrol, 1978; Miller and Gradiner, 1998)

1.2 การแบ่งกลุ่มของข้าว

ข้าวจัดอยู่ใน family Gramineae ใน genus *Oryza* ที่มีทั้งหมด 24 ชนิด (species) แต่มีเพียงข้าวสายพันธุ์ *O. sativa* และ *O. glaberrima* เท่านั้นที่นำมาเพาะปลูก ข้าวพันธุ์ *O. sativa* เป็นข้าวสายพันธุ์ที่นิยมเพาะปลูกมากที่สุดและสามารถเจริญได้ในพื้นที่ต่างๆ ทั่วโลก (Jha et al., 2005) นิยมปลูกมากในแถบเอเชีย ทวีปเอเมริกาเหนือและอเมริกาใต้ ทวีปยุโรป และทวีปอัฟริกาตะวันออก ข้าวสายพันธุ์ *O. glaberrima* จะเจริญได้ดีในแถบประเทศอัฟริกาตะวันออก (The office of the gene technology regulator, 2005)

ข้าวสายพันธุ์ *O. sativa* แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ indica, japonica และ javanica คุณลักษณะของข้าวแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ลักษณะความแตกต่างของข้าว indica, japonica และ javanica

ลักษณะ	indica	japonica	javanica
พื้นที่เพาะปลูก	อินเดีย	ญี่ปุ่น	อินโดนีเซีย
ความสูงของต้นข้าว	ต้นสูง	ต้นแคระ	ต้นสูง
ใบ	ใบกว้าง สีเขียวอ่อน ใบบาง	ใบแคบ สีเขียวแก่	ใบกว้างแข็ง สีเขียวอ่อน
การแตกกอ	แตกกอมาก	แตกกอปานกลาง	แตกกอน้อย
เมล็ด	เมล็ดลีบ เรียบและยาว	เมล็ดเล็กและกลม	เมล็ดกว้างและหยาบ
การร่วง	เมล็ดร่วงมาก	เมล็ดร่วงยาก	เมล็ดร่วงยาก

1.3 ภูมิอากาศ

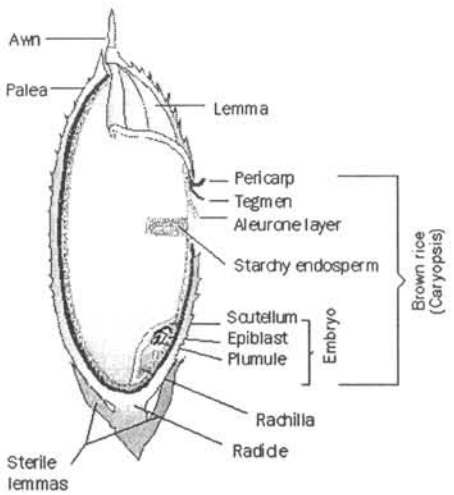
ข้าวเป็นพืชที่ชอบความร้อนและชอบน้ำต้องการอุณหภูมิสูงและความชื้นที่เพียงพอ อุณหภูมิต่ำสุดที่ทำให้ข้าวงอกและออกรวงได้ คือ 10 ^{o}C อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 20-25 ^{o}C การสร้างเมล็ดของข้าวจะอยู่ที่อุณหภูมิ 20-21 ^{o}C ที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 10 วัน ก่อนที่ช่อดอกจะโผล่จากกาบใบซึ่งทำให้ผลผลิตของข้าวเกิดความเสียหายเนื่องจากดอกข้าว (spikelets) เป็นหมัน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของข้าว คือ 20-25 ^{o}C ในพื้นที่ที่ปริมาณน้ำฝน 1,000-1,500 มิลลิเมตร ข้าวจะต้องการน้ำมาก (125 มิลลิเมตร) ในช่วงที่ข้าวกำลังเจริญเติบโต ข้าวนาสวนต้องการน้ำฝนปริมาณ 200 มิลลิเมตร และข้าวไร่ต้องการน้ำฝนปริมาณ 100 มิลลิเมตร (Jha et al., 2005)

1.4 ลักษณะของข้าว

ข้าวที่นิยมเพาะปลูกโดยทั่วไปจะเป็นพืชตระกูลหญ้าครึ่งน้ำครึ่งบกและแม้ว่าจะอยู่ในเขตร้อนข้าวก็ยังสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ตลอดทั้งปีโดยการแตกหน่อจากข้อภายหลังจากฤดูเก็บเกี่ยว ข้าวที่โตเต็มวัยจะมีลำต้นหลักและมีการแตกหน่อเพิ่มขึ้น การแตกหน่อแต่ละครั้งจะเกิดในช่วงที่ดอกข้าวบานหรือในช่วงที่ช่อดอกเป็นแบบ panicle ความสูงของต้นข้าวจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อม ความสูงอยู่ระหว่าง 0.4 เมตร หรือสูงมากกว่า 5 เมตร ลักษณะของข้าวแบ่งเป็นระยะการงอก (ประกอบด้วยระยะการงอก การเกิดเป็นต้นกล้า และระยะการแตกหน่อ) และระยะสืบพันธุ์ (ประกอบด้วย ระยะที่ช่อดอกเป็นเริ่มแบบ panicle และระยะที่ช่อดอกโผล่ออกจากกาบใบ) (Maclean et al., 2002)

1.4.1 เมล็ดข้าว

เมล็ดข้าวประกอบด้วย true fruit หรือ เยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีน้ำตาลที่เรียกว่า ข้าวกล้อง (caryopsis) และเปลือกซึ่งมีข้าวกล้องอยู่ภายใน ข้าวกล้องประกอบด้วยจมูกข้าวหรือคัพภะ (embryo) ที่เหลือเป็นแหล่งสะสมอาหารหรือเอนโดสเปิร์ม (endosperm) พื้นผิวจะมีชั้นบางๆ หลายชั้นซึ่งมีเนื้อเยื่อที่แตกต่างกันที่หุ้มจมูกข้าวหรือคัพภะกับแหล่งสะสมอาหารหรือเอนโดสเปิร์มอยู่ (ภาพที่ 1) เมล็ดข้าว 1 เมล็ดจะหนักประมาณ 10-45 มิลลิกรัม ที่ความชื้นเท่ากับ 0% ความยาว ความกว้าง และความหนาของเมล็ดข้าวจะแตกต่างกันออกไป น้ำหนักโดยเฉลี่ยของเปลือกหุ้มเมล็ดจะหนักประมาณ 20% ของน้ำหนักทั้งหมดของเมล็ดข้าว

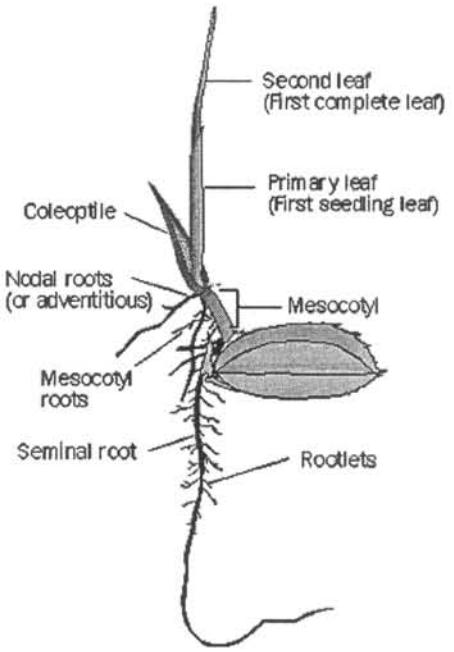


ภาพที่ 1 ลักษณะของเมล็ดข้าวตัดตามขวาง (Maclean et al., 2002)

1.4.2 ต้นกล้า (seedling)

ในกระบวนการงอกของเมล็ดข้าวและการพัฒนาเป็นต้นกล้าจะเริ่มเมื่อเมล็ดที่อยู่ในภาวะพักตัวมีการแตกออกและมีการดูดซึมน้ำเข้าไปในปริมาณที่มากพอ เปลือกจะแตกออกเมื่ออุณหภูมิอยู่ในช่วง 10-40 °C การงอกโดยความหมายทางกายภาพหมายถึงช่วงเวลาที่ส่วนรากที่เป็นรากปฐมภูมิ (radicle) หรือกาบหุ้มยอดอ่อน (coleoptile) หรือ (embryonic shoot) ที่โผล่พ้นรอยแตกของเปลือกหุ้มเมล็ดออกมา ภายใต้สภาวะที่มีอากาศส่วนรากที่เป็น seminal root จะเป็นส่วนแรกที่โผล่ออกมาเป็น coleorhiza จากจมูกข้าวหรือคัพภะและตามด้วยกาบหุ้มยอดอ่อน ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ กาบหุ้มยอดอ่อนจะเป็นส่วนแรกที่โผล่ออกมาและจะมีการพัฒนารากเมื่อส่วนนี้สัมผัสกับอากาศ ถ้าเมล็ดมีการพัฒนาในที่มืด เช่น เมื่อเมล็ดข้าวอยู่ใต้ผิวดินจะมีการพัฒนา short stem (mesocotyl) ซึ่งจะยกส่วนยอดดอกของพืช

ขึ้นส่วนนี้จะอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าผิวหน้าดิน (ภาพที่ 2) ภายหลังจากที่กาบหุ้มยอดอ่อนงอกออกมามันจะแยกตัวออกและพัฒนาเป็นใบปฐมภูมิ (primary leaf) (Maclean et al., 2002)



ภาพที่ 2 ส่วนต่างๆ ของต้นกล้า (seedling) ที่งอกภายใต้สภาวะที่มืด (Maclean et al., 2002)

1.4.3 การแตกหน่อ (Tillering plants)

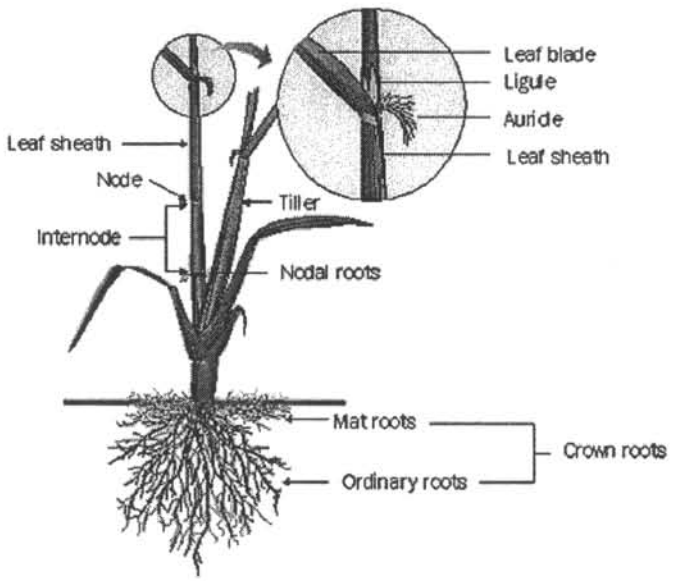
ลำต้นของข้าวจะประกอบไปด้วยข้อ (nodes) และปล้อง (internodes) ความยาวของปล้องขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างรวมถึงสภาวะแวดล้อมแต่โดยทั่วไปแล้วความยาวของปล้องจะเพิ่มขึ้นระหว่างข้อที่ต่ำลงมาและข้อที่อยู่สูงขึ้นไป แต่ละข้อจะเป็นที่กำเนิดของใบและตาซึ่งสามารถเจริญเป็นหน่อใหม่ได้ จำนวนของข้อจะมีตั้งแต่ 13-16 ข้อ และมีส่วนที่อยู่เหนือขึ้นไป 4-5 ข้อจะถูกแบ่งด้วยปล้องที่ค่อนข้างยาว ในสภาวะที่ระดับน้ำเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วอาจทำให้ข้าวจมน้ำได้ดังนั้นข้าวจึงมีการเพิ่มความยาวของปล้องในส่วนที่ต่ำลงมามากกว่า 30 เซนติเมตร ในแต่ละปล้อง

แผ่นใบ (leaf blade) จะยึดติดอยู่ที่ข้อต่อจากกาบใบ (leaf sheath) บริเวณรอยต่อระหว่างแผ่นใบและกาบใบจะมีลักษณะเป็นเยื่อบางๆ เรียกว่า เยื่อกั้นน้ำ (ligue) และมีเขี้ยวใบ (auricles) ยื่นออกมามีขนเล็กๆ ขึ้นรอบเขี้ยวใบซึ่งส่วนนี้เกิดขึ้นที่ส่วนฐานของแผ่นใบ

ในระยะการแตกหน่อจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะที่ต้นกล้าสามารถช่วยเหลือตัวเองได้ และจะสิ้นสุดเมื่อมีดอกข้าวเริ่มออกเป็นช่อ การแตกหน่อมักจะเริ่มเมื่อข้าวมีใบได้ 5 ใบ หน่อแรกจะพัฒนาขึ้นระหว่างลำต้นหลัก (main stem) หรือเรียกว่า หน่อชุดแรก (primary tiller) และหน่อที่แตกจากหน่อชุดแรกเรียกว่า หน่อชุดที่สอง (secondry tiller) และ

หน่อชุดที่สองก็จะมีการแตกหน่อเป็นชุดที่สาม (terially tiller) ซึ่งการแตกหน่อจะเกิดขึ้นพร้อมๆ กัน แม้ว่าหน่อจะยังติดอยู่กับต้นแต่ในระยะต่อมาหน่อจะแยกตัวออกมาเมื่อมันมีรากของมันเอง ความสามารถในการแตกหน่อของข้าวขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวที่ปลูก ระยะห่างในการปลูก แสง สารอาหารที่ให้ และการจัดการต่างๆ ในการปลูกข้าว

ระบบราก (root system) ของข้าว มี 2 แบบหลักๆ คือ crown roots (ประกอบด้วย mat roots) และ nodal roots (ภาพที่ 3) รากทั้ง 2 ชนิด พัฒนามาจากข้อแต่ crown root จะพัฒนามาจากข้อที่อยู่ใต้ผิวดิน รากที่พัฒนามาจากข้อที่อยู่เหนือดินมักจะเรียกว่า nodal roots ซึ่งมักจะพบรากชนิดนี้ในข้าวที่สามารถเจริญได้ในพื้นที่น้ำลึกมากกว่า 80 เซนติเมตร ส่วนใหญ่ข้าวจะเจริญได้ในน้ำที่มีความสูงในระดับต่างๆที่พบมากคือลึกกว่า 1 เมตร หรือมากกว่าในดินดอน (upland soil) ในพื้นที่ดินน้ำขังรากของต้นข้าวมักจะอยู่ลึกลงไปในดิน 40 เซนติเมตร ทำให้การแพร่กระจายของออกซิเจนผ่านเนื้อเยื่อ aerenchyma เพื่อให้รากมีการเจริญมีข้อจำกัด (Maclean et al., 2002)



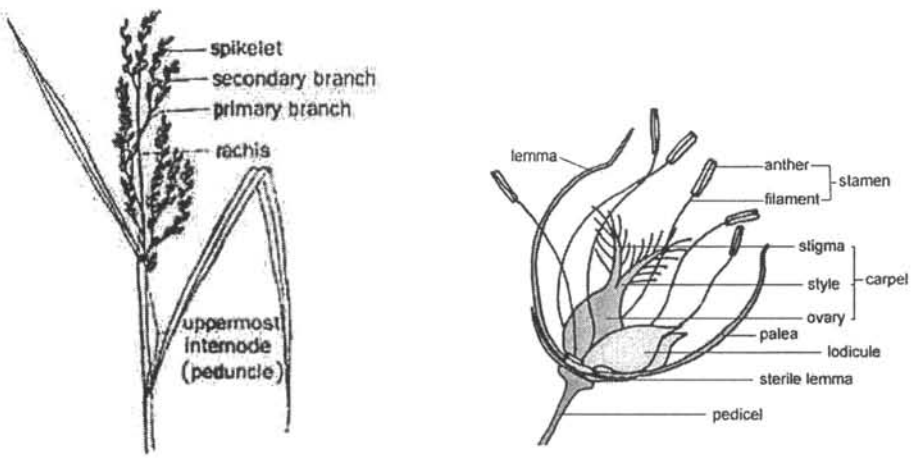
ภาพที่ 3 ส่วนต่างๆของลำต้นและหน่อของต้นข้าว (Maclean et al., 2002)

1.4.4 ช่อดอกและดอกข้าว

โครงสร้างหลักของช่อดอกประกอบไปด้วยฐานรวงข้าว (base) แกนกลางช่อดอก (axis) ระแง้ปฐมภูมิ (primary branch) ระแง้ทุติยภูมิ (secondary branch) ก้านดอก (pedicel) ก้านดอกย่อย (rudimentary glumes) และดอกข้าว (spikelets) แกนของรวงข้าว (panicle axis) จะยาวออกมาจากฐานรวงข้าว (panicle base) จนถึงปลายสุด มี 8-10 ข้อที่ปล้องซึ่งยาว 2-4 เซนติเมตร ซึ่งพัฒนามาจากระแง้ปฐมภูมิ ส่วนของระแง้ทุติยภูมิจะพัฒนา

มาจากระแง้ปฐมภูมิ ก้านดอกจะพัฒนามาจากข้อของระแง้ปฐมภูมิและระแง้ทุติยภูมิและมีดอกข้าวอยู่ข้างบน (ภาพที่ 4) (Maclean et al., 2002)

ข้าวจะมีการพัฒนาโดยมีเพียง 1 ดอกย่อย (flower) ต่อดอกข้าวทั้งสองคำ สามารถใช้แทนกันได้ ดอกย่อยจะอยู่ติดกับกลีบดอกย่อยด้านนอก (lemma) และกลีบดอกย่อยด้านใน (palea) ซึ่งอาจจะมีหาง (awn) หรือไม่มีหาง (awnless) ก็ได้ ดอกย่อยประกอบด้วยส่วนเกสรตัวเมีย (pistil) และเกสรตัวผู้ (stamen) ส่วนประกอบของเกสรตัวเมียจะประกอบด้วยปลายเกสรตัวเมีย (stigma) ก้านชูเกสรตัวเมีย (style) และรังไข่ (ovary) (Maclean et al., 2002)



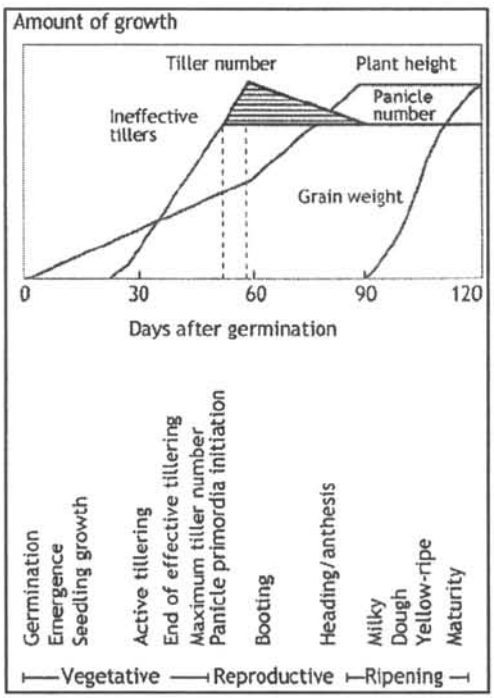
ภาพที่ 4 ส่วนต่างๆของช่อดอกและดอกข้าว (Maclean et al., 2002)

1.4.5 การเจริญของข้าว

การเจริญของต้นข้าวจะใช้ระยะเวลานาน 3-6 เดือน ขึ้นอยู่กับปัจจัยและสภาวะแวดล้อมในการเจริญ ระยะของการเจริญแบ่งเป็น 2 ระยะ คือ ระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางลำต้นและใบ (vegetative phase) และระยะการเจริญและพัฒนาทางด้านการสร้างส่วนขยายพันธุ์ (reproductive phase) ระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางลำต้นและใบเป็นระยะที่เริ่มตั้งแต่เมล็ดงอก (seed germination) ระยะที่เริ่มเป็นต้นกล้าและระยะที่มีการแตกหน่อ ในขณะที่ระยะการเจริญและพัฒนาทางด้านการสร้างส่วนขยายพันธุ์แบ่งตามช่วงเวลาก่อนและหลังระยะแทงรวง (heading) หลังจากระยะแทงรวงจะเป็นระยะสุกแก่ (ripening period) (ภาพที่ 5) (Maclean et al., 2002)

การตรวจสอบผลได้ของผลผลิตขั้นต้นจะทำการตรวจสอบก่อนที่ข้าวแทงรวง ผลได้สุดท้ายจะใช้ปริมาณของแป้งที่อยู่ในดอกข้าวซึ่งจะทำการตรวจสอบภายหลังจากที่ข้าวแทงรวง ระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการของข้าวตั้งแต่ปลูกไปจนกระทั่งเก็บเกี่ยวแบ่งออกเป็น 3 ระยะใหญ่ๆ คือระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางลำต้นและใบ (vegetative phase) ระยะการเจริญและพัฒนาทางด้านการสร้างส่วนขยายพันธุ์ (reproductive phase) และ

ระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางด้านการสุกแก่ของเมล็ด (ripening phase) ในเขตร้อน การเจริญของต้นข้าวในเวลา 120 วัน แบ่งเป็นระยะต่างๆดังนี้ ระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางลำต้นและใบใช้เวลาประมาณ 60 วัน ระยะการเจริญและพัฒนาทางด้านการสร้างส่วนขยายพันธุ์ใช้เวลาประมาณ 30 วัน และระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางด้านการสุกแก่ของเมล็ดใช้เวลาประมาณ 30 วัน (Maclean et al., 2002)



ภาพที่ 5 ขั้นการเจริญเติบโตในระยะเวลา 120 วัน ของพันธุ์ข้าวในเขตร้อน (Maclean et al., 2002)

1.4.6 ระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางลำต้นและใบ (vegetative phase)

ระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางลำต้นและใบถูกแบ่งลักษณะออกโดยอาศัยการแตกหน่อซึ่งจะมีการแตกหน่อเพิ่มขึ้นและใบจะโผล่ออกมาจากส่วนปล้อง การแตกหน่อที่ไม่มีช่อดอกจะเรียกว่า หน่อที่ไม่ให้รวง (ineffective tiller) ซึ่งจำเป็นต้องตรวจสอบอย่างใกล้ชิดในระหว่างผสมพันธุ์ข้าว ซึ่งปกติแล้วเป็นลักษณะข้าวที่ไม่พึงประสงค์สำหรับข้าวที่ปลูกโดยใช้น้ำชลประทาน แต่ในบางครั้งก็มีประโยชน์กับข้าวนาสวนที่ใช้น้ำฝนซึ่งหน่อให้รวง (productive tiller) หรือให้ช่อดอกอาจจะเกิดความเสียหายเนื่องจากสภาวะไม่เอื้ออำนวย (Maclean et al., 2002)

1.4.7 ระยะการเจริญและพัฒนาทางด้านการสร้างส่วนขยายพันธุ์ (reproductive phase)

คุณลักษณะที่สำคัญของข้าวในระยะการเจริญและพัฒนาทางด้านการสร้างส่วนขยายพันธุ์คือ การยืดยาวของ culm การแตกหน่อลดลง การเกิดใบธง (flag leaf) หรือใบสุดท้าย ข้าวเริ่มตั้งท้อง (booting) แทงรวง (heading) และดอกข้าวบาน (flowering) จะสามารถพบตาดอก (panicle initiation) ที่มีความยาว 1 มิลลิเมตร ในระยะ 25 วัน ก่อนที่ข้าวจะแทงรวงโดยระยะนี้จะเกิดขึ้นใกล้เคียงหรือพร้อม ๆ กับระยะแตกหน่อสูงสุดและระยะย่างปล้องและจะปรากฏเป็นตาดอกให้เห็นด้วยตาเปล่าถ้าทำการผ่าลำต้นบริเวณโคนต้นตามยาวดูตาดอกจะเริ่มเกิดขึ้นในต้นหลักก่อนและจะเกิดขึ้นในหน่อต่างๆ เมื่อดอกข้าวบานเต็มที่ (spikelet anthesis หรือ flowering) ข้าวจะเริ่มแทงรวงทันทีและจะใช้เวลานาน 10-14 วัน สำหรับการพัฒนาเป็นรวงข้าวที่สมบูรณ์นั้นจะมีการเกิดเป็นช่อดอกในระหว่างที่มีการแตกหน่อภายในต้นเดียวกันและระหว่างต้นข้าวในพื้นที่ปลูกเดียวกัน ในทางเกษตรกรรมระยะที่ข้าวแทงรวงจะหมายถึงระยะที่ข้าวมีช่อดอกเกิดขึ้น 50% (Maclean et al., 2002)

ระยะดอกข้าวบานจะอยู่ในช่วงระยะเวลา 1,000 ถึง 1,300 ชั่วโมง ในเขตร้อนและการปฏิสนธิจะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ภายใน 6 ชั่วโมง ดอกข้าวประมาณ 2-3 ดอก จะเริ่มบานในตอนกลางวันและมักจะเกิดเมื่ออุณหภูมิต่ำ ภายในเวลา 7-10 วัน ดอกข้าวทั้งหมดจะบานเต็มที่ซึ่งดอกข้าวจะบานเต็มที่ประมาณ 5 วัน

ระยะข้าวสุกแก่จะเกิดขึ้นหลังจากการปฏิสนธิสามารถแบ่งออกเป็นระยะน้ำนม (milky stage) ระยะแป้งอ่อน (dough stage) ระยะข้าวสุกเหลือง (yellow-ripe stage) และระยะแก่ของเมล็ดหรือระยะพลับพลึง (maturity stage) การเรียกระยะต่างๆนั้นจะอ้างตามลักษณะโครงสร้าง องค์ประกอบและสีสันของเมล็ดข้าวที่เจริญอยู่ในระยะนั้นๆ ระยะนี้จะใช้เวลาประมาณ 15 ถึง 40 วัน ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวที่ปลูก การสุกแก่ของข้าวขึ้นอยู่กับอุณหภูมิซึ่งในเขตร้อนจะใช้เวลาประมาณ 30 วัน และระยะนี้จะใช้เวลานานขึ้นถึง 65 วัน ในเขตที่มีอากาศหนาวเย็น เช่น Hokkaido Japan และ Yanco, Australia (Maclean et al., 2002)

1.5 ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองของประเทศไทยที่เป็นที่รู้จักกันมากที่สุดในโลกเป็นข้าวพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงและเป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภค ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิมีต้นกำเนิดมาจากอำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา ทางทิศตะวันออกของกรุงเทพฯ เมล็ดของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิจะมีสีขาว (ซึ่งเป็นที่มาของชื่อขาวดอกมะลิ) และใบมีกลิ่นหอม (Vitoon, nd)

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิมีชื่อเป็นทางการว่า "ขาวดอกมะลิ 105" ชื่อมีที่มาจากตัวที่เป็นรหัสจากการปลูกแบบคัดเลือกพันธุ์ซึ่งใช้ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิจำนวน 100 พันธุ์ ที่เก็บตัวอย่างพันธุ์ข้าวมาจากภาคต่างๆของประเทศไทยจนได้สายพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 4-2-105 ซึ่งเลข 4 หมายถึงสถานที่เก็บรวงข้าว เลข 2 หมายถึง พันธุ์ทดสอบที่ 2 คือ ขาวดอกมะลิ และเลข 105 หมายถึง แถวหรือรวงที่ 105 จากจำนวนรวงข้าวที่นำมาทำการทดสอบ (Vitoon, nd) ข้าว

พันธุ์นี้เป็นที่รู้จักกันดีในชื่อ "ข้าวหอมมะลิ" (Jasmine Rice) หรือข้าวหอมมะลิไทย" (Thai Hom Mali Rice) ซึ่งเป็นที่รู้จักกันว่าเป็นข้าวที่มีคุณภาพดีที่สุด (Wongpornchai et al., 2004) ข้าวพันธุ์นี้ไม่เพียงมีกลิ่นหอมเท่านั้นแต่ยังประกอบอาหารได้ดีอีกด้วย กล่าวคือ ข้าวจะนุ่ม อ่อน และหุงขึ้นหม้อ (Lanceras et al., 2000) และเป็นที่ต้องการเพิ่มมากขึ้นในตลาดโลก (Wongpornchai et al., 2004)

ในความเป็นจริงพื้นที่เพาะปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิที่เหมาะสมที่สุดจะอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยซึ่งเรียกว่า "ทุ่งกุลาร้องไห้" พื้นที่ดังกล่าวมักจะประสบกับปัญหาขาดน้ำในระหว่างที่ข้าวอยู่ในระยะน้ำนม ระยะสุกแก่ของเมล็ดและปัญหาดินเค็มซึ่งทำให้พืชเกิดความเครียดเนื่องจากแรงดันออสโมติคได้ (osmotic pressure) ทำให้ได้ผลผลิตที่ต่ำลง ความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพของข้าวกับพื้นที่เพาะปลูกมีการอธิบายไว้ไม่มากนัก อย่างไรก็ตามมีข้อแนะนำว่าผลผลิตของข้าวในพื้นที่ดังกล่าวจะได้รับผลกระทบเมื่อข้าวได้รับความเครียดในระหว่างที่ข้าวอยู่ในระยะแก่สุก (Yoshihashi, 2005)

2. ความหมายของความเครียด

ความเครียด หมายถึง ปัจจัยภายนอกใดๆที่ทำให้อัตราการเจริญที่เหมาะสมลดลง กล่าวคือ ปัจจัยใดๆที่ไปยับยั้ง จำกัด หรือก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมปกติของพืช และเป็นปัจจัยใดๆที่เกี่ยวข้องกับการฆ่าทำลายอวัยวะหรือเนื้อเยื่อแต่ไม่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต (รวมถึงการที่พืชยังมีชีวิตอยู่ได้ การเก็บเกี่ยวบางส่วนของพืช) (Grierson, 1994)

3. ความเครียดเนื่องจากความเค็ม

3.1 ความหมายของดินเค็ม

ดินเค็มหรือความเครียดเนื่องจากความเค็ม หมายถึง ดินที่มีความเข้มข้นของเกลือที่ละลายได้อยู่ในปริมาณมากในดินที่มีความชื้นบริเวณรากพืช (Oosterbaan, 2003) เกลือที่ละลายได้ส่วนใหญ่ที่พบในดินประกอบด้วยอนุภาคที่มีประจุบวก ได้แก่ sodium (Na^+) calcium (Ca^+) และ magnesium (Mg^{2+}) และอนุภาคที่มีประจุลบ ได้แก่ chloride (Cl^-) sulfate (SO_4^{2-}) และ bicarbonate (HCO_3^-) นอกจากนั้นยังพบ potassium (K^+) ammonium($NH4^+$) nitrate (NO_3^-) และ carbonate (CO_3^-) ในปริมาณน้อยอีกด้วยและอนุภาคอื่นๆ อีก ในบางครั้งจะพบความเข้มข้นของเกลือที่ละลายได้ในสารละลายดินมีปริมาณมากกว่าน้ำทะเล คือมีเกลือ 3% - 4% ของปริมาณเกลือทั้งหมด (Miller, Gardiner, 1998) ความเข้มข้นของเกลือละลายได้เหล่านี้ทำให้แรงดันออสโมติคสูงตามไปด้วยส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยเกลือจะไปจำกัดการดูดซึมน้ำของรากพืช ความเค็มมีผลต่อการเจริญของพืชเนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของเกลือที่สูงมากในดินจะไปรบกวนสมดุลการดูดซึมไอออนของธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช (Oosterbaan, 2003)

การวัดระดับความเข้มข้นของเกลือในดินจะวัดในรูปของค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดิน (electrical conductivity) สถาบัน USDA Salinity Laboratory ได้กำหนดไว้ว่าดินเค็มจะมีค่า EC_e เท่ากับ 4 dS/m หรือ มากกว่านั้น ค่า EC_e คือ ค่าการนำไฟฟ้าของการสกัดดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำ (saturated paste extract) กล่าวคือ เป็นสารละลายที่สกัดมาจากตัวอย่างดินภายหลังจากการผสมด้วยน้ำที่มากเกินพอจนทำให้เกิดการอิ่มตัว อย่างไรก็ตามมีพืชหลายชนิดที่ได้รับผลกระทบจากดินที่มีค่า EC_e น้อยกว่า 4 dS/m (Munns, nd)

ความเค็มมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชและผลผลิตของพืชโดย 1) การงอกของเมล็ดเกิดขึ้นได้ไม่เต็มที่และเกิดช้า 2) พืชเกิดอาการขาดน้ำ ต้นเหี่ยวและเกิดการแห้งของพืช 3) การเจริญหยุดชะงัก ใบพืชเล็ก กิ่งและลำต้นสั้น 4) ใบพืชมีสีเขียวน้ำเงิน (blue-green) 5) ดอกของพืชบานช้า มีดอกน้อย การปฏิสนธิการเกิดเมล็ดน้อย และ 6) มีวัชพืชทนเค็มหรือวัชพืชที่เป็น halophilous ผลของปัจจัยเหล่านี้ทำให้พืชมีผลผลิตของเมล็ดและส่วนต่างๆ ของพืชต่ำ (Oosterbaan, 2003) การจำแนกระดับความเค็มที่มีผลต่อพืชแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การจำแนกระดับความเค็มที่มีผลต่อพืช

ค่าการนำไฟฟ้า (dS/m^{-1})	อาการของพืช
0-2	มีผลกระทบกับพืชบางส่วน
2-4	มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชที่ไม่ทนเค็ม (สตรอเบอร์รี่)
4-8	มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิด
8-16	มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชส่วนใหญ่
16+	เฉพาะพืชทนเค็มจัดจึงเจริญเติบโตให้ผลผลิตได้

(Miller and Gardiner, 1998)

พืชไร่ส่วนใหญ่ที่สามารถทนเค็มได้ (เช่น ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวและข้าวไรน์) จะทนเค็มได้ในดินที่มีค่า EC_e เท่ากับ 4 ถึง 8 mmho/cm ในพืชไร่บางชนิด (เช่น ข้าวบาร์เล่ย์ หัวบีท และฝ้าย) พืชผัก (เช่น ต้นบีท กะหล่ำปลี ผักขมและต้นพุทรา) และผลไม้ (เช่น ต้นอินทผลัม ต้นมัลเบอร์รี่ ต้นมะกอก ต้นทับทิมและต้นพุทรา) มีความสามารถทนเค็มได้ในดินที่มีค่า EC_e เท่ากับ 8 ถึง 16 mmho/cm ในหญ้าบางชนิด เช่น Sporobolus Pucinellia *Cynodon dactylon* (Bermada grasses) *Chloris gayana* (Rhodes grass) และ *Agropyron elongatum* (tall wheatgrass) สามารถทนเค็มจัดได้ (EC_e เท่ากับ 8 ถึง 16 mmho/cm) พืชจำพวกถั่วจะเป็นพืชทนเค็มน้อยสามารถทนเค็มได้ในดินที่มีค่า EC_e เท่ากับ 2 ถึง 4 mmho/cm (Oosterbaan, 2003)

3.2 การวัดค่าดินเค็ม

ระดับความเค็มจะวัดโดยใช้ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดิน (Oosterbaan, 2003; Miller, Gardiner, 1998) และหน่วยของค่าการนำไฟฟ้า (International System, หรือ SI) คือ decisiemens per meter (dS/m) ยังมีนักวิทยาศาสตร์บางท่านและวรรณกรรมบางเล่มที่มีการเผยแพร่ในปัจจุบันยังคงรายงานหน่วยในแบบเดิมคือ mmhos per centimeter (mmhos/cm) (Miller, Gardiner, 1998) ความสัมพันธ์ของหน่วยของค่าการนำไฟฟ้าในสารละลายดินเป็นดังนี้:

หน่วยพื้นฐาน	**หน่วยส่วนใหญ่ที่ใช้กับดิน**	**หน่วยเดิมที่ยังคงใช้อยู่ในวรรณกรรม**
Siemens meter^{-1}	Decisiemens meter^{-1}	Millimhos centimeter^{-1}
Sm^{-1}	dSm^{-1}	$Mmhoscm^{-1}$
	1 Sm^{-1} = 10 dsm^{-1} = 10 $mmhocm^{-1}$	

(Miller and Gardiner, 1998)

แต่เดิมจะทำการวัดค่าการนำไฟฟ้าในสารละลายดินที่ทำให้อิ่มตัวด้วยน้ำ (EC_e) แต่วิธีนี้ค่อนข้างยุ่งยากเนื่องจากในขั้นตอนแรกนั้นต้องทำให้สารละลายในดินอิ่มตัวก่อน ขั้นตอนที่สองต้องใช้น้ำในการสกัดสารในดินให้อิ่มตัวโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) และขั้นตอนที่สามในดินทราย (sandy soil) จะไม่มีการทำให้สารละลายอิ่มตัวได้ดี วิธีการที่เป็นสากลและสะดวกมากคือใช้การสกัด 1:5 (1:5 extract) โดยทำการอบดินให้แห้งหรือใช้การบีบอัดดิน จากนั้นนำดินที่ได้ไปเขย่ากับน้ำโดยใช้น้ำปราศจากไอออน 5 g ต่อดิน 1 g จากนั้นนำตัวตรวจวัด (probe) จากเครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้าจุ่มลงในสารแขวนลอยและทำการอ่านค่าการนำไฟฟ้า (EC) ที่วัดได้ สามารถคำนวณค่า EC ในดินตัวอย่างได้ถ้าทราบถึงปริมาณน้ำของเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง ในทางกลับกันค่าที่วัดได้จะเกี่ยวข้องกับค่าความชื้นภาคสนาม (field capacity) ของดินโดยใช้ปริมาณเทียบเท่า (conversion factor) ตัวอย่างคร่าวๆ อย่างเช่นในดินทรายจะมีค่าความชื้นภาคสนามเท่ากับ 0.2 g ของน้ำต่อดิน 1 g และในดินเหนียวจะมีค่าประมาณ 0.4 g/g (Munns, nd) ตารางที่ 5 แสดงค่าการนำไฟฟ้าในสารละลายดินบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิ 20 ^{o}C

ตารางที่ 5 ค่าการนำไฟฟ้าในสารละลายดิน (EC) ในสารละลายดินบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิ 20 ^{o}C

สารละลาย*	EC (dS/m)
10 mM NaCl	1.0
100 mM NaCl	9.8
500 mM NaCl	42.2
10 mM KCl	1.2
10 mM $CaCl_2$	1.8
10 mM $MgCl_2$	1.6
50 mM $MgCl_2$	8.1

* สารละลายใช้แทนเกลือที่พบในดินหรือในน้ำทะเล ข้อมูลที่ได้มาจาก Handbook of Physics and Chemistry (CRC Press, 55th edition, 1975 cited in Munns,nd) (หมายเหตุ 1dS/m = 1 mmho/cm)

3.3 ชนิดและสาเหตุของดินเค็ม

3.3.1 ดินเค็มตามธรรมชาติ (Natural or primary salinity)

ดินเค็มที่มีสาเหตุจากธรรมชาติเกิดจากการสะสมของเกลือเป็นเวลานานที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติในดินหรือในน้ำใต้ดิน ซึ่งมีสาเหตุมาจากกระบวนการทางธรรมชาติ 2 กระบวนการด้วยกัน กล่าวคือ เกิดจากสภาพอากาศของแหล่งที่มีเกลือละลายอยู่และเกิดจากการทับถมกันของละอองของน้ำทะเลที่เกิดการระเหยกลายเป็นอนุภาคของเกลือ (oceanic salt) ทั้งจากลมและฝนที่พัดพามา กระบวนการที่เกิดจากสภาพอากาศจะทำให้ก้อนหินแตกออกเป็นชิ้นและปล่อยเกลือที่ละลายได้หลายชนิดออกมาส่วนใหญ่แล้วจะพบ sodium calcium และ magnesium ในปริมาณมากและพบ sulphates กับ carbonates ในปริมาณน้อย ซึ่งเกลือที่ละลายนั้นจะพบ sodium chloride มากที่สุดในกรณีที่มีละอองของน้ำทะเลที่เกิดการระเหยกลายเป็นอนุภาคของเกลือนั้นมีตัวอย่างที่ได้กล่าวไว้ว่าวงจรของเกลือ (cyclic salt) ซึ่งเป็นละอองของน้ำทะเลที่เกิดการระเหยกลายเป็นอนุภาคของเกลือจะเกิดการแพร่กระจายในดินได้โดยอาศัยลมและฝนที่ทำให้เกิดการสะสมเกลือในดินส่วนใหญ่แล้วเกลือที่พบจะเป็นเกลือ sodium chloride (Munns, nd)

3.3.2 ดินเค็มที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ (secondary or human-induced salinity)

การเกิดดินเค็มที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ที่ไปเปลี่ยนแปลงสมดุลน้ำ (hydrologic balance) ของดินระหว่างแหล่งน้ำ (น้ำจากการชลประทานหรือน้ำฝน) กับน้ำที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ (การคายน้ำ หรือ transpiration) ส่วนใหญ่แล้วมักจะเกิดจาก (1) การถาง

พื้นที่ (land clearing) และการปลูกพืชยืนต้นทดแทนพืชล้มลุก และ (2) โครงการชลประทานที่ใช้น้ำที่มีเกลืออยู่มากหรือมีการระบายน้ำที่ไม่เพียงพอ ก่อนที่จะเกิดกิจกรรมจากการกระทำของมนุษย์ในสภาพอากาศแบบแห้งแล้งหรือกึ่งแห้งแล้งน้ำที่พืชพันธุ์นำมาใช้จะมีความสมดุลกับปริมาณน้ำฝนที่ตกลงมาโดยรากลึกของพืชตามธรรมชาติจะรักษาระดับน้ำใต้ดิน (water table) ไว้ให้อยู่ต่ำกว่าผิวหน้าดิน การถางป่าและการทำชลประทานทำให้สมดุลดังกล่าวเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งปริมาณน้ำฝนที่ตกลงมาและน้ำจากการชลประทานนั้นมีมากเกินความต้องการของพืช จากนั้นน้ำจะนำเอาเกลือที่สะสมอยู่ก่อนหน้านั้นในดินชั้นล่างขึ้นมายังบริเวณรากพืช พืชจะใช้น้ำและเหลือเกลือไว้จนกระทั่งน้ำในดินมีความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้นมากและรากพืชก็ยังคงดูดซึมน้ำต่อไป ระดับน้ำใต้ดินจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังจากนั้นระดับน้ำจะเพิ่มขึ้นจนถึงผิวหน้าดิน น้ำจะระเหยไปเหลือทิ้งไว้แต่เกลืออยู่บนผิวหน้าดินและเกิดเป็นแผ่นเกลือ เกลือที่สะสมอยู่สามารถแพร่ไปยังบริเวณใกล้เคียงโดยอาศัยน้ำเป็นตัวพาไปและทั่วทั้งบริเวณจะมีความเค็มเพิ่มมากขึ้น (Munns, nd) ตารางที่ 6 แสดงการประมาณการณ์โดยรวมของการทำให้เกิดดินเค็ม

พื้นที่ในการทำชลประทานของโลกในปี 1987 มีทั้งหมด 221 Mha (ตารางที่ 6) พื้นที่ชลประทานหลายแห่งมีระดับน้ำใต้ดินเพิ่มขึ้นเนื่องจากแหล่งน้ำมีมากเกินความจำเป็นควบคู่กับไม่มีการระบายน้ำที่เพียงพอ โครงการชลประทานส่วนใหญ่จะอยู่ในเขตพื้นที่กึ่งแห้งแล้งและแห้งแล้ง ดังนั้นควรจะต้องคำนึงถึงปัญหาของสภาพน้ำขังใต้ผิวดิน (waterlogging) และปัญหาดินเค็มก่อนที่จะทำการวางแผนในการทำชลประทาน ระบบการทำชลประทานของโลกมักจะก่อให้เกิดปัญหาดินเค็มขั้นทุติยภูมิและเกิดน้ำขังใต้ผิวดิน ตารางที่ 6 แสดงให้เห็นถึงสัดส่วนของผลกระทบจากเกลือที่เกิดขึ้นในพื้นที่ที่มีการทำชลประทานในหลายๆ ประเทศซึ่งมีสัดส่วนที่น้อยที่สุดอยู่ระหว่าง 9% ถึงสัดส่วนที่สูงที่สุด คือ 34% โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ยทั้งโลกเท่ากับ 20% ในพื้นที่ชลประทานมีเพียง 15% เท่านั้นของพื้นที่เพาะปลูกทั้งหมด แต่มีพื้นที่ชลประทานอย่างน้อยสองเท่าที่เป็นพื้นที่กักเก็บปริมาณน้ำฝนซึ่งอาจจะเป็น 1 ใน 3 ของแหล่งผลิตอาหารของโลก (Munns, nd)

ตารางที่ 6 การประมาณการณ์โดยรวมของการเกิดดินเค็มโดยมีสาเหตุมาจากการกระทำของมนุษย์ในพื้นที่ชลประทานของโลก

Country	Total land area cropped Mha	Area irrigated		Area of irrigated land that is salt-affected	
		Mha	%	Mha	%
China	97	45	46	6.7	15
India	169	42	25	7.0	17
Soviet Union	233	21	9	3.7	18
United States	190	18	10	4.2	23
Pakistan	21	16	78	4.2	26
Iran	15	6	39	1.7	30
Thailand	20	4	20	0.4	10
Egypt	3	3	100	0.9	33
Australia	47	2	4	0.2	9
Argentina	36	2	5	0.6	34
South Africa	13	1	9	0.1	9
Subtotal	843	159	19	29.6	20
World	1,474	227	15	45.4	20

Source: Ghassemi et al. (1995) compiled from FAO data for 1987 cited in Munns, nd.

3.3.3 พัฒนาการและการแบ่งประเภทของดินที่ได้รับผลกระทบจากความเค็ม

ดินที่ได้รับผลกระทบจากความเค็มสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มได้ดังนี้

3.3.3.1 ดินเค็ม (saline soil) เกิดขึ้นภายใต้อิทธิพลของสารอิเล็กโตรไลท์ (electrolyte) ของเกลือโซเดียมที่เกือบจะมีปฏิกิริยาเป็นกลาง (neutral reaction) (พบสาร Na_2SO_4 และ NaCl อยู่มาก และมี $NaNO_3$ อยู่เพียงเล็กน้อย) ดินในลักษณะนี้มักจะเกิดขึ้นในพื้นที่แห้งแล้งและกึ่งแห้งแล้งและดินที่ได้รับผลกระทบจากเกลือจะปรากฏอยู่ทั่วทุกส่วนของพื้นที่ในโลก ความเข้มข้นของเกลือที่มีปริมาณสูงในดินและระยะของเหลว (liquid phase) มีผลทำให้เกิดแรงดันออสโมติคสูงซึ่งจะไปขัดขวางการเจริญเติบโตที่เป็นปกติของพืช ปัจจัย

ความเครียดที่ทำให้ความเค็มนั้นไม่มีประโยชน์กับพืชเนื่องจากมีธาตุประกอบของเกลือบางตัวที่เป็นพิษต่อพืช เช่น chloride เป็นต้น

3.3.3.2 ดินด่าง (alkaline soil) เกิดขึ้นภายใต้อิทธิพลของความสามารถในการอิเล็กโตรไลท์ของปฏิกิริยา alkaline hydrolysis ดินชนิดนี้จะพบในพื้นที่ที่มีสภาพอากาศทุกแบบเริ่มจากเขตร้อนชื้นเลยไปจนถึงบริเวณขั้วโลกและปริมาณของเกลือทั้งหมดมักจะต่ำกว่าดินเค็ม ในบางครั้งก็พบว่าดินชนิดนี้จะมีความเป็นด่างสูงมาก ดินด่างจะมีปริมาณความเข้มข้นของเกลือไม่สูงนัก แต่มีค่า pH เป็นด่างโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ที่มีความเข้มข้นของ sodium carbonate ในรูปของเหลวและของแข็งในปริมาณสูง ค่า pH ของความเป็นด่างสูงจะมีผลไปขัดขวางบทบาทหน้าที่ในการดำรงชีวิตของพืชและจำกัดการพัฒนาการของต้นพืช ดินด่างอีกชนิดหนึ่งที่พบจะมีค่า pH ไม่สูงมาก ค่าความเข้มข้นของเกลือโซเดียมที่สามารถทำปฏิกิริยา alkaline hydrolysis จะเป็นปัจจัยหลักของความเครียดที่ส่งผลทำให้คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำใต้ดินไม่ดีหรือเป็นประโยชน์ต่อพืช มีผลทำให้เกิดจุดเหี่ยวเฉา (wilting point) ในดินเพิ่มขึ้นและทำให้พืชขาดน้ำในที่สุด ถึงแม้พืชจะอยู่ในดินที่มีความชื้นสูงก็ตาม (wet soil) เนื่องจากเกิดการขยายตัวของดินเหนียวที่อิ่มตัวไปด้วยอิออนของเกลือโซเดียม

3.3.3.3 ดินที่ได้รับผลกระทบจากความเค็ม ซึ่งเกิดจากการสะสมของ $CaSO_4$ (gypsiferous soil) หรือ $CaCl_2$ ดินชนิดที่เป็น gypsiferous soil สามารถพบได้ทั้งในเขตแห้งแล้งและกึ่งแห้งแล้งของอเมริกาเหนือ แอฟริกาเหนือ บริเวณใกล้ใจกลาง และตะวันออกไกลและในออสเตรเลีย ใน gypsiferous soil ความเป็นกรดของดินและความเข้มข้นของ gypsum ในระดับที่สูงจะเป็นปัจจัยของความเครียดที่มีต่อต้นพืชและการดำรงชีวิตของพืชที่อยู่ในบริเวณดังกล่าวซึ่งขยายออกไปเป็นวงกว้าง

3.3.3.4 ดินที่ได้รับผลกระทบจากความเค็มเนื่องจากเกลือ magnesium ซึ่งจะเกิดขึ้นในพื้นที่แห้งแล้ง กึ่งแห้งแล้งและในเขตกึ่งชื้น ทำให้ดินมีลักษณะเนื้อแข็ง ในดิน magnesium soil การขาดธาตุแคลเซียมและคุณสมบัติทางกายภาพที่ไม่ดีของดินเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดความเครียด

3.3.3.5 ดินกรดกำมะถัน (acid sulfate soil) ที่มีปริมาณของเกลือที่ประกอบด้วย $Al_2(SO_4)_3$ และ $Fe_2(SO_4)_3$ ดินที่ได้รับผลกระทบจากความเค็มชนิดนี้จะแผ่ขยายออกไปอย่างกว้างขวางจนถึงพื้นที่แหล่งน้ำยาวไปถึงชายฝั่งทะเลทั่วทั้งทวีป มักจะพบทางตอนเหนือของยุโรปตามแนวชายฝั่งทะเลทางภาคตะวันตกและตะวันออกของแอฟริกายาวไปถึงแนวชายฝั่งทะเลทางตะวันออกเฉียงใต้ของอินเดียและในพื้นที่อื่นๆ ซึ่งเกิดจากการตกตะกอนของซัลเฟอร์ในทะเล พื้นที่ดินกรดกำมะถันสามารถพบได้ในบริเวณต่างๆทั่วโลก เช่น ทางด้านตะวันตกของอเมริกา คาบสมุทรในเอเชียตะวันตกระหว่างทะเลดำกับทะเลเมดิเตอร์เรเนียนและประเทศจีน ดังนั้นการที่ดินเกิดเป็นดินชนิดนี้เป็นผลของกระบวนการทำงานของน้ำ (fluvial process) และไม่เกี่ยวข้องกับชายฝั่งในระยะเวลาทางธรณี (geological times) ในปัจจุบัน ดินกรดกำมะถันมีความเป็นกรดสูง ในบางครั้งพบว่ามีค่า pH ต่ำกว่า 2 ซึ่งเป็นต้นเหตุของการเกิด

ความเครียดจากความเป็นกรดสูงทำให้เกิดความเสียหายอย่างมาก ยิ่งไปกว่านั้นยังพบสาร aluminum ซึ่งเป็นพิษในปริมาณสูงในสารละลายดินอีกด้วย

นอกจากนี้ดินที่ได้รับผลกระทบจากเกลือที่มีผลมาจากกระบวนการตามธรรมชาติและจากการกระทำของมนุษย์มีเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ทั้งในทางวิทยาศาสตร์และในทางปฏิบัติ ปัญหาดินเค็มที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์มีสาเหตุมาจากการทำชลประทานที่ไม่เหมาะสมเป็นหลัก (Szabolcs, 1994)

ดินเค็มสามารถจัดการได้โดยการจัดการฟาร์ม (farm management) ในการทำเกษตรชลประทานซึ่งวิธีการทำชลประทานที่ดีกว่า เช่น การทำการเกษตรแบบการให้น้ำแบบหยด (drip irrigation) เพื่อให้มีการใช้น้ำอย่างเหมาะสม การเกษตรน้ำฝน (rainfed agriculture) มีวิธีการปฏิบัติ เช่น การปลูกพืชหมุนเวียนกับพืชยืนต้นที่มีรากลึกที่อาจจะช่วยคืนสภาพสมดุลระหว่างปริมาณน้ำฝนที่ตกลงมากับน้ำที่พืชนำไปใช้เพื่อเป็นการป้องกันการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำใต้ดินที่จะนำเอาเกลือขึ้นมายังผิวหน้าดิน วิธีการทั้งหมดจะขึ้นอยู่กับการทนเค็มได้ในระดับสูงไม่เพียงแต่ชนิดของไม้ยืนต้นที่ใช้น้ำเกลือในน้ำใต้ดินเท่านั้นแต่ยังขึ้นอยู่กับเกลือบางชนิดที่ยังคงเหลืออยู่ในดินอีกด้วย (Munns, 2002)

ประมาณ 1.28 million hectares ของผิวหน้าดินในพื้นที่แถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยประสบกับปัญหาดินเค็มจากการสะสมของเกลือ NaCl ที่เกิดจากภูเขาเกลือใต้ดิน (salt dome) พื้นที่ดินเค็มครอบคลุม 14 จังหวัดดังนี้ สกลนคร หนองคาย อุดรธานี ขอนแก่น นครพนม นครราชสีมา มหาสารคาม กาฬสินธุ์ ชัยภูมิ บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีษะเกษ ยโสธร และอุบลราชธานี ในพื้นที่ดังกล่าวระดับของดินเค็มจะขึ้นอยู่กับชั้นของดินที่มีความลึกต่างกันและขึ้นอยู่กับฤดูกาลด้วย ในฤดูฝนเกลือจากใต้ดินจะแพร่ผ่านแบบ capillary ขึ้นมายังดินที่อยู่ชั้นบนสุด สอดคล้องกับธรรมชาติของดินทรายในเขตภูมิภาคนี้ของประเทศที่แนวโน้มการเกิดการแพร่ผ่านแบบ capillary ยากที่จะควบคุมได้ ดังนั้นความรุนแรงของสภาวะดินเค็มที่มีผลมาจากการสะสมของเกลือ NaCl ในพื้นที่ดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วนำไปสู่ความยุ่งยากในการจัดการเรื่องน้ำและดิน (Pengthaisong, 2001)

4. ผลกระทบของความเครียดเนื่องจากความเค็มที่มีต่อพืช

4.1 ผลกระทบต่อการเจริญ การงอกของเมล็ดและปริมาณสารอิออน

เกลือมักจะมีผลทำลายพืชที่ยังโตไม่เต็มที่และมีผลอย่างมากเมื่อพืชอยู่ในระยะที่เมล็ดงอกดังนั้นความเข้มข้นของเกลือในปริมาณสูงสามารถไปยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชหรือทำให้เมล็ดพืชงอกช้าลง พืชแต่ละชนิดทนเค็มได้ต่างกันและส่วนต่างๆ ของพืชก็สามารถทนเค็มได้ต่างกันด้วย (Miller, Gardiner, 1998)

ข้าวจัดเป็นพืชทนเค็มปานกลางมีความไวต่อความเค็มมากในระยะการงอกเป็นต้นกล้าในตอนต้นและจะทนเค็มได้ในระยะที่มีการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางลำต้นและใบและจะกลับมาไวต่อความเค็มอีกครั้งในระยะที่มีการถ่ายละอองเรณู (pollination) และระยะการ

ปฏิสนธิ (fertilization) จากนั้นจะเพิ่มความสามารถในการทนเค็มได้อีกในระยะแก่ของเมล็ด อาการของความเสียหายที่เกิดขึ้นในข้าวคือการเจริญของข้าวจะหยุดชะงัก ใบม้วนงอ ปลายใบขาว (white leaf tip) เกิดโรคปื้นขาว (white blotch) ในส่วนของ laminae เกิดการแห้งของใบที่แก่กว่าและรากเจริญได้ไม่ดี (Ponnamperuma, 1984) ยิ่งไปกว่านั้นความถี่ในการงอกและอัตราการงอกจะต่ำที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 1% การงอกจะหยุดที่ความเข้มข้นของเกลือมากกว่า 0.25% อาการของพืชเมื่อได้รับความเสียหายจากเกลือคือใบจะมีสีน้ำตาลแกมเหลือง เริ่มจากปลายใบและเปลี่ยนเป็นสีขาวในใบที่อยู่ต่ำกว่า ในขณะเดียวกันพืชจะมีต้นเตี้ย ความเค็มจะไปยับยั้งการแตกหน่อ ช่อดอกมีขนาดเล็กและระยะแทงรวงช้า ความยาวของช่อดอกสั้น จำนวนเมล็ดต่อช่อดอกลดลงและมีเปอร์เซ็นต์ของการสุกแก่ต่ำ ในกรณีที่ประสบกับปัญหาความเค็มอย่างรุนแรง จะเกิดปัญหารากเน่า และรากบางส่วนกลายเป็นสีดำหรือสีขาว ที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 0.1% จะไม่มีผลทำให้เกิดความเสียหายที่สามารถสังเกตเห็นได้ในระยะของการเจริญเติบโตภายหลังจากการปักดำ อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 0.3% การยับยั้งการเจริญเติบโตจะสังเกตเห็นได้ในระยะต่อมาและส่วนใหญ่แล้วพืชจะตายเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มขึ้นเป็น 0.5% ผลผลิตที่ได้เมื่อมีการให้เกลือในระยะแทงรวงและระยะดอกข้าวบานจะพบอาการรวงขาวเพิ่มมากขึ้น อัตราการเกิดการเป็นหมันสูง ดอกข้าวจะไม่บานและทำให้ผลได้ของผลผลิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ การให้เกลือจะยับยั้งการแตกหน่อเมื่อพืชเข้าสู่ระยะนี้และเป็นเหตุให้พืชเป็นหมัน เมื่อพืชอยู่ในระยะที่ดอกข้าวกำลังบานเมื่อความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 0.1% หรือมากกว่านั้น เมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลต่อจำนวนของรากและความยาวของรากที่สามารถสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้นมากกว่า 0.7% วิกฤตความเข้มข้นของเกลือที่มีต่อการงอกของรากและความยาวของรากจะอยู่ที่ประมาณ 2.5% การทำลายพืชโดยเกลือเชื่อว่าเกิดจากความผิดปกติในการดูดซึมน้ำของรากพืช (Taniyama, 1993)

Zhang et al. (1996) ศึกษาความสามารถของข้าว 375 สายพันธุ์จากแถบอาเซียน 10 ประเทศและจากอเมริกาใต้อีก 5 ประเทศ ต่อความเครียดเนื่องจากความเค็มโดยการให้คะแนนอัตราการงอกของข้าวในสารละลายเกลือ NaCl พบว่าสายพันธุ์ข้าวส่วนใหญ่ที่มาจากประเทศมาเลเซียและประเทศต่างๆ ในแถบแอฟริกาใต้มีระดับการทนเค็มสูงกว่าสายพันธุ์ข้าวในประเทศไทย ฟิลิปปินส์ และญี่ปุ่น และยังพบว่าข้าวสายพันธุ์ indica สามารถทนเค็มได้มากกว่าข้าวสายพันธุ์ japonica

Lefevre et al. (2001) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของข้าวที่เพาะปลูก 2 สายพันธุ์: salt-sensitive (I Kong Pao, IKP) และ salt-resistant (Pokkali) ต่อแรงดันออสโมติกที่เกิดจาก NaCl, KCl (50 และ 100 mM) หรือ polyethylene glycol (PEG 6000, 16 และ 26%) ผลการทดลองพบว่าปริมาณความเข้มข้นของ Na^+ และ K^+ จะเพิ่มสูงขึ้นในรากและยอดของข้าวทั้งสองสายพันธุ์ภายหลังจากการให้ NaCl และ KCl เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง ในทางตรงกันข้ามสาร PEG 6000 ไม่มีผลต่อการสะสม Na^+ และ K^+ ในพืช ซึ่งให้ผลการทดลองที่

แตกต่างกับการทดลองของ Cano et al. (1998) ซึ่งศึกษาผลของความเครียดเนื่องจากความเค็มในมะเขือเทศพบว่าความเข้มข้นของ K^+ จะลดลงเมื่อระดับของ KCl เพิ่มขึ้น

Lee et al.(2003) แบ่งระดับของการทนเค็มของข้าวสายพันธุ์ indica และ japonica ภายใต้สภาวะที่มีการให้เกลือและไม่ให้เกลือ โดยนำต้นกล้าที่มีอายุ 12 วัน ไปปลูกในสารละลายธาตุอาหารปกติ จากนั้นเริ่มให้เกลือที่มีค่าการนำไฟฟ้า (EC) เท่ากับ 6 dS/m เป็นเวลานาน 4 วัน และสุดท้ายให้เกลือที่มีค่า EC เท่ากับ 12 dS/m เป็นเวลานาน 14 วัน ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าข้าวสายพันธุ์ indica มีระดับที่สามารถทนเค็มได้สูงกว่าข้าวสายพันธุ์ japonica ข้าวสายพันธุ์ indica แสดงให้เห็นว่ามีการป้องกัน Na ได้ดี ดูดซึม K ได้ในปริมาณสูง และรักษาอัตราส่วนของ Na/K ในส่วนยอดของข้าวให้อยู่ในระดับต่ำได้

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอีกมากที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับผลของความเครียดเนื่องจากความเค็มในพืชชนิดต่างๆ ที่มีรายงานไว้เช่น ผักขม ผักสลัดแก้ว เมลอน พริกไทย บร็อคโคลี่ หัวบีท มะเขือเทศ ถั่วฟาบาหรือถั่วเถามีฝัก และข้าวโพด (Botia et al., 1998; Cuartero, Fernández-Munoz, 1999; Cordovilla et al., 1999; Romero-Aranda et al., 2001; Zapata et al., 2003; Cicek, Cakirlar, 2002; Zapata et al., 2004; ZÖrb et al., 2004)

Ugar (1996) ศึกษาผลของความเครียดเนื่องจากความเค็มที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทนเค็ม (*Atriplex patula*) โดยการแช่เมล็ดข้าวและต้นกล้าในสารละลายเกลือ 0.2% พบว่าทั้งการงอกของเมล็ดและผลผลิตของน้ำหนักแห้งลดลงอย่างมากเมื่อความเค็มเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นของเกลือมากกว่า 0.1% NaCl เปอร์เซ็นต์ของเถ้า Na^+ และ Cl^- จะเพิ่มขึ้นในส่วนของยอดเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเกลือแต่ละความเข้มข้น ในขณะที่ปริมาณของ K^+ จะลดลงอย่างมาก

Wahome et al. (2001) ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ที่มีต่อต้นกุหลาบ (*Rosa)* ซึ่งทำการเลี้ยงในหลอดทดลอง การทำลายแผ่นใบและอาการเหี่ยวของพืชจะปรากฏให้เห็นใน 14 วัน ภายหลังจากการเริ่มให้เกลือที่ความเข้มข้น 5, 10, 20 และ 30 mM NaCl ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมที่เพิ่มขึ้นในอาหารทำให้เกิดการสะสมคลอไรด์และโซเดียมในปริมาณที่สูงขึ้นในส่วนของใบพืชที่นำมาทำการทดสอบ

Anthraper and Dubois (2003) รายงานว่าความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ในความเข้มข้นเท่ากับ 0.025 mol/l เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้การเจริญเติบโตของพืช การตรึงไนโตรเจน และเปอร์เซ็นต์ของเนื้อเยื่อสะสมไนโตรเจนในต้นอ่อนของ *Leucaena leucocephala* var. K-8 อายุน้อยกว่า 1 ปี ลดลงอย่างมาก ซึ่งต้นพืชดังกล่าวคือต้นถั่วฝักยาวเขตร้อน (tropical leguminous) ที่มีต้นกำเนิดในอเมริกากลาง ในปีเดียวกันนั้น Bell and O'Leary ศึกษาความสัมพันธ์ของอัตราการเจริญเติบโต (relative growth rate หรือ RGR) การสะสมชีวมวลและปริมาณน้ำในพืช *Sporobolus virginicus* (Poaceae) เมื่อให้เกลือ NaCl ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าพืชสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 100-150 mmol/l และไม่ขึ้นอยู่กับระดับของ nitrogen หรือปริมาณการสะสม Na^+ ในส่วนของใบพืช การสะสมชีวมวลและ RGR

หอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ของพืชที่เจริญที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 450 mmol/l NaCl จะมีค่าสูงกว่าเมื่อความเข้มข้นของเกลือเป็น 5 mmol/l อัตราส่วนของ Na:K ในส่วนของใบจะต่ำกว่ารากแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างในการเคลื่อนย้ายของ Na^+ และ K^+ ในต้นพืช

วิ
S
597
.R5
S451 ศ
2547

4.2 Osmoprotectants (สารป้องกันแรงดันออสโมซีส)

Osmoprotectants (สารป้องกันแรงดันออสโมซีส) พบว่าเป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญต่อการป้องกันตัวเองของพืชจากผลที่เกิดขึ้นจากปัจจัยที่ไม่มีชีวิต (abiotic facter) บทบาทหน้าที่ของ osmoprotectant จะเป็นตัว osmolyte ซึ่งช่วยป้องกันการขาดน้ำ (dehydration) ภายใต้สภาวะที่พืชต้องการรักษาสมดุลของน้ำในส่วนยอดและราก สาร osmotic-protectant จะไปลดปัญหาการขาดน้ำและปัญหาดินเค็มให้กับต้นพืช มีรายงานการวิจัยหลายชิ้นที่ศึกษาเกี่ยวกับ osmoprotectant เช่น proline (amino acid) glycine betaine และน้ำตาล (mannitol fructants และ trehalose) และพบว่าสารเหล่านี้ช่วยให้พืชสามารถทนต่อความเครียดเนื่องจากการขาดน้ำได้ (Yamaguchi et al., 2002)

4.2.1 โพรลีน (Proline)

สารโพรลีนพบสะสมอยู่ในแบคทีเรีย รา พืช และพบได้ในเซลล์สัตว์ ภายใต้สภาวะที่ได้รับความเครียดเนื่องจากแรงดันออสโมติก ในข้าวทนเค็มสายพันธุ์ japonica พบว่าการถอดรหัสของยีน *P5CS* (ซึ่งเป็นรหัสสำหรับ Δ^1 –pyrroline-5-carboxylate synthetase; เอนไซม์ที่ควบคุมอัตราเร็วในการเร่งปฏิกิริยาในวิถีการสังเคราะห์สารโพรลีนในระหว่างที่พืชได้รับความเครียด) มีการสะสมในระดับที่สูงเมื่อได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือ การขาดน้ำ ความร้อน ความเย็น และ ABA และพบว่าเกิดควบคู่ไปพร้อมกันการสะสมของสารโพรลีนด้วย (Igarashi et al., 1997) เชื่อว่าสารโพรลีนเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการปรับแรงดันออสโมติคขั้นต้นภายในไซโตพลาสซึม (Voetberg, Sharp, 1991) และเป็นสารป้องกันแรงดันออสโมซีส (Kavi et al., 1995) และเป็น hydroxyl radical scavenger (Smirnoff, Cumbes, 1989) มีการรายงานถึงสารโพรลีนว่ามีบทบาทในการป้องกันเอนไซม์ที่จะสูญเสียกิจกรรมทางชีวภาพ (Nikolopolous, Manetas, 1991) ช่วยให้กระบวนการสังเคราะห์โปรตีนมีความคงตัว (Kadpal, Rao, 1985) ควบคุมการเกิดความเป็นกรดในไซโตพลาส (Venekamp et al., 1989) เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ (water-binding capacity) (Schobert, Tschesche, 1978) และทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมคาร์บอนและไนโตรเจน (Fukutaku, Yamada, 1984)

มีรายงานการพบการสะสมสารโพรลีนภายใต้สภาวะที่ได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็มในพืชหลายชนิด เช่น ข้าว (Heuer, 1994; Igarashi et al., 1997; Shah et al., 2001; Hien et al., 2003; Demiral, TÜrkan, 2006), Arabidopsis (Liu, Zhu, 1997) ยาสูบ (Watad et al., 1983) ถั่วพุ่ม (cowpea) (Silveira et al., 2001) และต้นมัลเบอร์รี่ (Kumar et al., 2003)

มีรายงานถึงการสูญเสียกลไกควบคุมย้อนกลับของเอนไซม์ P5CS ในพืชที่อยู่ในสภาวะที่ได้รับความเครียด การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบระดับของโพรลีนในต้นยาสูบที่ผ่านการตัดต่อพันธุกรรมกับต้นยาสูบสายพันธุ์ดั้งเดิมซึ่งต้นยาสูบดั้งเดิมมีการแสดงออกของ *Vigna aconitifolia* P5CS และต้นยาสูบกลายพันธุ์มีการแสดงออกในรูปของเอนไซม์ (P5CSF129A) ซึ่งกลไกการยับยั้งย้อนกลับของสารโพรลีนถูกกำจัดออกโดยการทำ site-directed mutagenesis (Kavi et al., 1995) ต้นยาสูบสายพันธุ์กลายที่มีการแสดงออกของ P5CSF129A จะมีการสะสมสารโพรลีนสูงกว่าประมาณ 2 เท่า เมื่อเทียบกับพันธุ์ดั้งเดิม และพบว่าต้นยาสูบมีปริมาณการสะสมโพรลีนมากขึ้นเมื่อมีการให้เกลือที่ความเข้มข้น 200 mM จากผลการทดลองชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่ากลไกควบคุมย้อนกลับของการสังเคราะห์สารโพรลีนเป็นกลไกหลักในการควบคุมการสังเคราะห์สารโพรลีนในพืชทั้งในสภาวะปกติและสภาวะที่พืชได้รับความเครียด (Hong et al., 2000) ระดับของโพรลีนที่เพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากการแสดงออกที่มากเกินไป (overexpression) ของ P5CS ในข้าวที่ดัดแปลงพันธุกรรมทำให้ข้าวสามารถทนเค็มได้มากขึ้น ยีน Δ^1-pyroline-5-carboxylate synthase (P5CS) cDNA จาก mothbean (*V. aconitifolia* L.) ถูกเหนี่ยวนำเข้าสู่จีโนมของข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยวิธี biolistic การแสดงออกของ *P5CS* transgene ภายใต้การควบคุมของ stress-inducible promoter ทำให้เกิด stress-inducible overproduction ของเอนไซม์ P5CS และการสะสมโพรีลนในข้าวดัดแปลงพันธุกรรม ข้าวดัดแปลงพันธุกรรมรุ่นที่ 2 (R1) มีชีวมวลเพิ่มขึ้นภายใต้สภาวะที่ได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็มและความเครียดเนื่องจากน้ำ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้ดัดแปลงพันธุกรรมซึ่งเป็นตัวควบคุม (Zhu et al., 1998) นอกจากนั้น Iyer and Caplan (1998) ยังได้รายงานถึง proline biosynthesis และ catabolism เช่น glutamic และ Δ^1-pyroline-5-carboxylic acid (P5C) เพิ่มขึ้นรวมถึงการแสดงออกของยีนที่ควบคุมแรงดันในข้าวประกอบด้วย *salt* และ *dhn4*

4.2.2 ไกลซีนบีเทน (Glycine betaine)

ไกลซีนบีเทนเป็นสารประกอบ quaternary ammonium ที่พบตามธรรมชาติในพืช สัตว์ และสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กหลายชนิด (Rhodes, Hanson, 1993) พืชจัดเป็นแหล่งสะสมสารไกลซีนบีเทนในธรรมชาติภายใต้สภาวะที่ตอบสนองต่อความเค็ม การขาดน้ำและความเย็น ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าการสะสมสารไกลซีนบีเทนมีความสัมพันธ์กับการได้มาซึ่งความสามารถในการทนต่อความเค็มและความเย็นในข้าวโพด (*Zea mays*) และข้าวบาร์เล่ย์ (*Hordeum vulgaris*) ตามลำดับ (Rhodes et al., 1989; Kisshitani et al., 1994) นอกจากนี้ยังพบอีกว่าการสะสมไกลซีนบีเทนยังช่วยให้พืชในตระกูล Gramineae อีกหลายชนิดมีความสามารถในการทนเค็มได้มากขึ้น (Saneoka et al., 1995) ยิ่งไปกว่านั้นการให้สารไกลซีนบีเทนกับใบและรากของพืชยังช่วยให้พืชหลายชนิดมีความสามารถในการทนต่อความเครียดต่างๆ ได้ (Allard et al., 1998) พืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น ข้าวและมันฝรั่งเป็นพืชที่ขาดการสะสมสารไกลซีนบีเทนหรือสะสมในปริมาณน้อย ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าน่าจะ

มีการดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อเพิ่มความสามารถในการทนต่อความเครียดโดยใช้วิธีการทางพันธุวิศวกรรมที่ช่วยทำให้พืชที่ไม่มีการสะสมสารไกลซีนบีเทนหรือสะสมน้อยสามารถสะสมสารได้ในระดับที่พืชใช้ป้องกันตัวเองได้ (McCue, Hanson, 1990) นอกจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ในวิถีการสังเคราะห์สารไกลซีนบีเทน เช่น betaine aldehyde dehydrogenase ก็มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นในพืชหลายชนิดภายใต้สภาวะที่พืชได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็ม (Weigel et al., 1986; McCue, Hanson, 1990; Moghaieb et al., 2004)

4.2.3 ทรีฮาโลส (trehalose)

ทรีฮาโลสเป็นน้ำตาล non-reducing ของกลูโคส ซึ่งมีบทบาททางสรีรวิทยาที่สำคัญซึ่งเป็นตัวช่วยป้องกันพืชเมื่อได้ความเครียดจากปัจจัยต่างๆ ที่ไม่ใช่สิ่งมีชีวิต และพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด อาทิเช่น แบคทีเรีย ยีสต์ สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และพืชบางชนิด (resurrection plant) (Crowe et al., 1992) ในระดับเซลล์พืช สารทรีฮาโลสจะช่วยรักษาโครงสร้างของเซลล์และทำหน้าที่ทดแทนน้ำบนผิวหน้าของสารโมเลกุลขนาดใหญ่ คุณสมบัติของสารทรีฮาโลสเหล่านี้ช่วยให้พืชอยู่รอดได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่ได้รับความเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิต (The genetic engineering newsletter, 2004) มีงานวิจัยอีกมากที่รายงานถึงบทบาทของทรีฮาโลสในการเป็นตัวป้องกันความเครียดเนื่องจากปัจจัยจากสิ่งไม่มีชีวิต ตัวอย่างเช่น ในข้าวและมะเขือเทศดัดแปลงพันธุกรรมจะมีการสะสมปริมาณของทรีฮาโลสเพิ่มมากขึ้นเมื่อได้รับความเครียดเนื่องจากปัจจัยที่ไม่มีชีวิต และยังพบว่ามีระดับของการทนต่อความเครียดเนื่องจากความเค็ม ความแห้งแล้ง และจากอุณหภูมิต่ำได้เพิ่มขึ้นด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับพืชที่ไม่มีการดัดแปลงพันธุกรรม (Garg et al., 2002; Jang et al., 2003; Cortina et al., 2005)

4.3 การสังเคราะห์แสง

ในระยะเริ่มต้นที่พืชเริ่มได้รับความเค็มพืชจะเคยชินกับความเครียดเนื่องจากน้ำซึ่งจะไปลดการเพิ่มขยายของแผ่นใบ และเมื่อพืชได้รับความเค็มในระยะเวลานาน พืชจะเคยชินกับความเครียดเนื่องจากอิออนต่างๆ (ionic stress) ทำให้ใบพืชเจริญไม่เต็มที่ นำมาซึ่งการลดลงของพื้นที่ใบพืชที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง (Cramer, Nowak, 1992) เกลือยังมีผลต่อองค์ประกอบอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แสง เช่น เอนไซม์ คลอโรฟิลล์ และแคโรทินอยด์ การเปลี่ยนแปลงของสิ่งเหล่านี้อยู่กับความรุนแรงและระยะเวลาที่พืชได้รับความเครียด (Misra et al., 1997) และขึ้นอยู่กับชนิดของพืชด้วย (Dubey, 1994)

Wanichanan et al. (2001) เพาะเมล็ดข้าวสายพันธุ์ Leuang Ta Mo (ข้าวสายพันธุ์ทนเค็ม) ภายใต้สภาวะที่ได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็ม และทำการวัดปริมาณของโพรลีนและวัดดัชนีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ (chlorophyll degradation index) เพื่อค้นหาเทคนิคที่รวดเร็วสำหรับใช้ในการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ทนเค็ม ความเข้มข้นของเกลือ NaCl และ

ระยะเวลาที่ได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็มมีผลอย่างมากต่อปริมาณของโพรลีนและดัชนีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ ปริมาณโพรลีนจะมีความสัมพันธ์กับดัชนีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ ดังนั้นดัชนีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ของข้าวเมื่อปลูกในอาหารที่มีเกลือ NaCl ที่ความเข้มข้น 513 mM เป็นเวลานาน 8 วัน จะเป็นเทคนิคที่รวดเร็วในการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ทนเค็ม

4.4 โปรตีนที่ถูกเหนี่ยวนำจากความเครียดเนื่องจากความเค็มและการแสดงออกของยีน

พืชที่เจริญอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีเกลือ จะมีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงการสังเคราะห์และการสะสมโปรตีนอย่างเด่นชัด มีงานวิจัยหลายๆ เรื่องที่กล่าวถึงการสังเคราะห์โปรตีนขึ้นมาใหม่ในเซลล์พืชที่ทำการเพาะปลูกเมื่อได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็ม ซึ่งเป็นการสังเคราะห์โปรตีนเฉพาะขึ้นมาภายใต้ความเครียดเนื่องจากความเค็มที่มีบทบาทในการทำให้พืชทนเค็มได้หรือทำให้พืชเกิดการปรับตัวได้ อย่างไรก็ตามกลไกการทำงานของโปรตีนที่ทำให้พืชสามารถปรับตัวได้นั้นยังไม่ชัดเจนนัก (Dubey, 1994) ตารางที่ 7 แสดงตัวอย่างของโปรตีนที่เกิดขึ้นเมื่อได้ความเครียดเนื่องจากความเค็มที่มีรายงานในพืชหลายชนิด

ตารางที่ 7 ชนิดของโปรตีนที่เกิดขึ้นเมื่อได้ความเครียดเนื่องจากความเค็มในพืชชนิดต่างๆ

Plant species	Molecular weight (kDa)	Isoelectric point (pI)	References
Barley root	20-24, and 26	6.3-7.2, and 6.3, 6.5	Ramagopal, 1987; Hurkman, Tanaka, 1987; Hurkman et al., 1991
Brassica	56.1-70.8, 93.8	-	Jain et al., 1993
Cultured tobacco cells	18, 19.5, 21, 26, 34, 35.5, 37 and 58	-	Singh et al., 1985
Tomato roots	21 21.5 22 32	5.7 5.5 5.4 6.4	Chen, Plant, 1999
Raphanus sativas	22	-	Lopez et al., 1994
Rice root	14.5 and 15	5	de Souza Filho et al., 2003; Claes et al., 1990; Salekdeh et al., 2002
Rice shoots	15 and 26	-	Shirata, Takagishi, 1990
Cultured rice cells	26 and 27	-	Shirata, Takagishi, 1990
Germinating rice seeds	23	-	Rani, Reddy, 1994

การปรับตัวต่อความเครียดเนื่องจากความเค็มเกิดขึ้นพร้อมกับการเปลี่ยนแปลงระดับของสารเมทาบอไลต์ต่างๆ เช่น โปรตีนและ mRNA (Serrano, 1996) มีการระบุถึงยีนหลายชนิดที่มีการแสดงออกเมื่อถูกกระตุ้นในข้าวภายหลังจากการให้ความเครียดเนื่องจากความเค็ม (Kawasaki, 2001) ยีนบางตัวที่เป็นรหัสสำหรับโปรตีนที่ใช้ป้องกันตัวเอง เช่น osmotin (Zhu et al., 1995) โปรตีนที่พบภายหลังจากการเกิด embrogenesis ที่สมบูรณ์ (LEA protein) (Espelund et al., 1992) และ ion transporter (Blumwald, 2000) ยิ่งไปกว่านั้น *salT* protein ยังแสดงคุณสมบัติเป็น mannose-binding lectin activity (Hirano et al., 2000; Zhang et al., 2000) มีการแยกและศึกษาคุณลักษณะของยีน *saltT* จากรากของข้าวที่มีการให้เกลือ (Claes et al., 1990) Garcia et al. (1998) รายงานว่าการแสดงออกของยีน *saltT* จะพบในช่วงที่ต้นกล้าของข้าวมีการพัฒนาตามปกติและในเมล็ดข้าวที่อยู่ในระยะที่มีการพัฒนาในตอนต้นภายใต้สภาวะที่มีการให้เกลือ (de Souza Filho et al., 2003)

Salekdeh et al.(2002) ศึกษาโปรตีนตอบสนองต่อความเค็มในรากของข้าวสายพันธุ์ทนเค็มพันธุ์ Pokkali และพันธุ์ข้าวสายพันธุ์ที่ไวต่อความเค็มพันธุ์ IR29 สามารถแยกโปรตีนได้ 3 ชนิดให้ชื่อเป็น RS2 RS4 และ RS5 ในข้าวพันธุ์ Pokkali และ IR29 ในข้าวพันธุ์ IR29 ภายใต้สภาวะที่ข้าวได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็มและสภาวะปกติ ภายใต้สภาวะที่ได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็มระดับการแสดงออกของ RS5 ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 22 kDa มีค่า pI เท่ากับ 6.7 เพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่าในข้าวพันธุ์ Pokali แต่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในข้าวพันธุ์ IR29 โปรตีนชนิดนี้มีความเหมือนกับ ASR1 class ของโปรตีน ซึ่งเป็น ABA และเป็นตัวตอบสนองต่อความเครียดหรือสังเคราะห์ในระหว่างที่ผลมีการสุกแก่ โปรตีน RS4 มีความเหมือนกับ ascorbate peroxidase ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นให้ H_2O_2 เปลี่ยนไปเป็น H_2O และ O_2 และช่วยป้องกันเซลล์จากการเกิด active oxygen species โปรตีน RS2 มีความเหมือนกับ caffeoyl-CoA O-methyltransferase (CCOMT) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์ syringyl lignin units

Gu et al. (2005) แยก dual-specificity protein kinase ที่เป็นรหัสสำหรับ Ser/Thr/Tyr kinase จากข้าวและให้ชื่อเป็น *OsDPK1* (*Oryza sativa* Dual-specificity Protein Kinase) *OsDPK2 OsDPK3* และ *OsDPK1* ตามลำดับ *OsDPK1* มีการแสดงออกอย่างมากในใบและมีการแสดงออกน้อยมากในรวงข้าวที่ยังเจริญไม่เต็มที่ *OsDPK2* พบว่ามีการแสดงออกบ่านกลางในใบและพบการแสดงออกน้อยมากในลำต้น *OsDPK3* พบการแสดงออกอย่างมากในรากและใบแต่ *OsDPK4* จะตรวจพบน้อยมากในทุกส่วนของเนื้อเยื่อของข้าว ระดับการถอดรหัสของ *OsDPK1 OsDPK2* และ *OsDPK3* ในต้นกล้าจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อได้รับความเครียดจาก ABA ความเค็มจัด ความแห้งแล้งและการไหม้ จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่ายีนเหล่านี้อาจจะเป็น gene family ใหม่ของข้าวที่เป็นรหัสสำหรับ Dual-specificity protein kinase ที่เกี่ยวข้องในการตอบสนองของพืชต่อความเครียดเนื่องจากปัจจัยทั้งที่มีและไม่มีชีวิต

มีนักวิจัยหลายท่านที่ศึกษาถึงผลกระทบของความเครียดเนื่องจากความเค็มที่มีต่อการสังเคราะห์โปรตีนในพืชหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น Singh et al. (1985) ศึกษาการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์ของต้นยาสูบที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์และ PEG ในปริมาณสูง พบว่าความเข้มของแถบพอลิเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 58, 37, 35.5, 34, 26, 19.5 และ 18 kDa มีความเข้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ ในขณะที่ความเข้มของแถบพอลิเปปไทด์แถบอื่นๆ ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 54, 52, 17.5 และ 16.5 kDa จะลดลง และจะพบแถบพอลิเปปไทด์ที่มีขนาดเท่ากับ 43 และ 26 kDa ในเซลล์พืชที่ผ่านความเครียดเนื่องจากขาดน้ำโดยการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์และ PEG แต่จะไม่พบในชุดควบคุม เซลล์ที่ปรับตัวจากการกระตุ้นด้วย PEG จะมีแถบพอลิเปปไทด์ที่มีขนาดเท่ากับ 29, 17.5, 16.5 และ 11 kDa เพิ่มขึ้น และแถบ พอลิเปปไทด์ที่มีขนาดเท่ากับ 58, 54, 52, 37, 35.5, 34, 21, 19.5 และ 18 kDa จะลดลง

Yen et al. (1994) ศึกษาโปรตีนตอบสนองต่อความเค็ม Con A binding protein มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 24 kDa ให้ชื่อว่า SRgp24 โปรตีนชนิดนี้พบในแคลลัสของ *Mesembryanthemum crystallinum* เมื่อเพาะแคลลัสให้เจริญในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์อยู่ระหว่าง 0 ถึง 100 mM โปรตีน SRgp24 พบได้โดยจะจับอยู่กับ Con A การเพิ่มความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 200 mM เป็นเวลานาน 3 วัน ทำให้ปริมาณของโปรตีน SRgp24 ลดลง ภายหลังจากการทำให้โปรตีน SRgp24 บริสุทธิ์นำไปหาลำดับกรดอะมิโนปลาย N พบว่ามีความเหมือนกับปลาย N ของ osmotin ที่เป็น salt-adapted ในต้นยาสูบโดยมีความเหมือนอยู่ที่ 55 ถึง 60%

Hoyos and Zhang (2000) พบโปรตีนที่เป็น protein kinase 2 ชนิด มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 48 และ 40 kDa ถูกกระตุ้นในเซลล์ของต้นยาสูบที่มีการให้เกลือโซเดียมคลอไรด์ protein kinase ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 48 kDa ถูกจำแนกเป็น salicylic acid-induced protein kinase (SIPK) ซึ่งเป็นส่วนใน family ของ mitogen-activated protein kinase (MAPK) ในต้นยาสูบที่ถูกกระตุ้นด้วยความเครียดต่างๆ การกระตุ้นให้เกิด protein kinase ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 40 kDa จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและขึ้นอยู่กับปริมาณความเครียดที่ได้รับ (dose-dependent) protein kinase ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 40 kDa ถูกจำแนกเป็น high osmotic stress-activated kinase (HOSAK) โปรตีนชนิดนี้เป็น Ca^{2+}-dependent kinase และใช้ myelin basic และ histone เป็นสารตั้งต้น osmolyte อื่นๆ เช่น proline กับ sorbitol จะกระตุ้นโปรตีน kinase นี้ให้มี kinetics ที่ใกล้เคียงกัน ในขณะที่การกระตุ้นโปรตีนทั้งสองชนิดจะไม่ขึ้นอยู่กับ Ca^{2+}- และ ABA จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า SIPK และ 40-kDa HOSAK เป็นสารประกอบตัวใหม่ใน Ca^{2+}- และ ABA-independent pathway ที่อาจจะทำให้พืชเกิดการปรับตัวเพื่อให้เข้ากับความเครียดเนื่องจากแรงดันสูง (hyperosmotic stress)

Chen et al. (2003) วิเคราะห์การแสดงออกของยีนในข้าวสาลีประกอบด้วย RH8706-49 ซึ่งเป็น salt-stress resistant line (SR) และ H8706-34 ซึ่งเป็น salt-strss

sensitive line (SS) ที่ได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือหรือไม่ได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ลำดับ cDNA ที่เป็นรหัสสำหรับ glycogen synthase kinase-shaggry kinase (*TaGSK1*) ถูกนำไปโคลนโดยใช้ใบข้าวสายพันธุ์ทนเค็ม น้ำหนักโมเลกุลของกรดอะมิโนเท่ากับ 43.5 kDa ค่า pI เท่ากับ 8.66 ผลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Northern blot พบว่ายีน *TaGSK1* จะถูกเหนี่ยวนำโดยความเครียดเนื่องจากความเค็มจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ และพบการแสดงออกในข้าวทนเค็มมากกว่าข้าวไวต่อความเค็ม จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่ายีน *TaGSK1* เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อความเครียดเนื่องจากความเค็ม ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของระบบนำส่งสัญญาณภายในเซลล์พืช

Ehsanpour and Amini (2003) ศึกษาผลกระทบของเกลือ NaCl ที่มีต่อกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase (APase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบได้มากในพืช เอนไซม์ชนิดนี้มีทั้งที่อยู่ในเซลล์และปลดปล่อยออกนอกเซลล์ ทำหน้าที่ dephosphorylase สาร organic phosphate ให้เปลี่ยนไปเป็น organic phosphate กิจกรรมของเอนไซม์ APase จะเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็มและความเครียดเนื่องจากแรงดัน ในการประเมินระดับการแสดงออกของ APase ทำโดยเพาะแคลลัสจากชิ้นส่วนของ *Medicago sativa* cv. Yazdi และ cv. Hamedani ให้เจริญในหลอดทดลองภายใต้สภาวะปลอดเชื้อในอาหาร MS medium ที่มีการเติม NAA, 2,4-D ลงในอาหาร MS medium ที่มีความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1% NaCl และใช้ mannitol ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10% mannitol เป็นความเครียดเนื่องจากแรงดัน หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ ทำการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ APase และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธีทางสถิติ เป็นที่ชัดเจนว่ากิจกรรมของเอนไซม์ APase จะเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็มจากเกลือและความเครียดเนื่องจากการขาดน้ำในพืชทั้งสองสายพันธุ์ ผลที่ได้ให้ผลคล้ายคลึงกับที่ตรวจพบในใบข้าวสายพันธุ์ Taichung Native 1 (Shinh, Kao, 1998) ระดับของกิจกรรมของเอนไซม์ APase จะเพิ่มขึ้นเช่นกันเมื่อได้รับความเครียดเนื่องจาก mannitol ความเครียดเนื่องจากน้ำและความเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ภายหลังจากการให้ความเครียดเป็นเวลานาน 12, 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

Guo et al. (2004) ศึกษาการแสดงออกของยีน *SsPrx* Q ที่เป็นรหัสสำหรับ peroxiredoxin Q protein ที่เป็นส่วนของ peroxiredoxin protein family ภายใต้สภาวะที่ได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือใน *Suaeda salsa* ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ายีน *SsPrx* Q มีการแสดงออกมากเมื่อได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl (400 mM) ความเครียดที่อุณหภูมิต่ำ (4° C) และความเครียดเนื่องจาก mannitol (800 mM) ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า SsPrx Q protein อาจจะมีบทบาทสำคัญในการป้องกันตัวเองของ *S. salsa* จากสิ่งแวดล้อมที่มีความเครียดต่างๆ

4.5 โปรตีนควบคุมการถอดรหัส (transcriptional factor proteins)

โปรตีนควบคุมการถอดรหัสเป็นหนึ่งในโปรตีนควบคุมที่พบในพืชที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจับอยู่กับบริเวณจำเพาะที่อยู่บนโมเลกุลของ DNA ที่จะกระตุ้น (activated) หรือยับยั้ง (deactivated) การแสดงออกของยีน (The genetic engineering newsletter, 2004) เมื่อ2-3 ปีที่ผ่านมามีงานวิจัยมากมายรายงานถึงการแสดงออกของโปรตีนควบคุมการถอดรหัสภายใต้สภาวะที่ได้ความเครียด ยกตัวอย่างเช่น Wang et al. (2003) ทำการแยกยีน bHLH-type gene หรือ *OsbHLH1* จากข้าว จากการคาดคะเนพบว่าโปรตีน OsbHLH1 เป็น putative nuclear-localization signal และเป็น putative DNA binding-domain bHLH-ZIP การถอดรหัสของยีน OsbHLH1 ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นอย่างจำเพาะในรากของต้นกล้าโดยมีการให้ความเย็นแต่ไม่มีการให้เกลือ NaCl, PEG และ ABA ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า OsbHLH1 อาจจะทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมการถอดรหัสในวิถี cold signal-transduction pathway

Dubuzet et al. (2003) แยก cDNAs 5 ชนิดสำหรับ *DREB* homologs: *OsDREB1A, OsDREB1B, OsDREB1C, OsDREB1D* และ *OsDREB2A* จากข้าว โปรตีนควบคุมการถอดรหัส DREBs/CBFs มีปฏิกิริยาอย่างจำเพาะกับ dehydration-resposive element/C-repeat (DRE/CRT) *cis*-acting element (core motif: G/ACCGAC) และควบคุมการแสดงออกของยีนที่สามารถชักนำได้ด้วยความเครียดใน *Arabidopsis* การแสดงออกของยีน *OsDREB1A* และ *OsDREB1B* ถูกเหนี่ยวนำโดยความเย็นในขณะที่การแสดงออกของยีน *OsDREB2A* ถูกเหนี่ยวนำโดยการเกิด dehydration และได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือที่ความเข้มข้นสูง การแสดงออกที่มากเกินไปของยีน *OsDREB1A* ใน Arabidopsis ที่ดัดแปลงพันธุกรรมจะเหนี่ยวนำการแสดงออกที่มากเกินไปของ target stress-inducible genes ของ Arabidopsis *DREB1A* ทำให้พืชมีความทนทานมากขึ้นซึ่งทนต่อความแห้งแล้ง ทนต่อเกลือที่มีความเข้มข้นสูงและความเครียดเนื่องจากการแช่แข็ง ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่ายีน *OsDREB1A* มีหน้าที่คล้ายคลึงกับยีน *DREB1A* และ *OsDREB1A* เป็นไปได้ว่าจะใช้สำหรับการผลิตพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่ดัดแปลงพันธุกรรมให้ทนต่อความแห้งแล้ง เกลือที่มีความเข้มข้นสูง และ/หรือความเครียดเนื่องจากความเย็น

Shen et al. (2003) ศึกษาคุณลักษณะของ DRE-binding proteins (TaDREB1) ซึ่งแยกมาจาก drought-induced cDNA library ของข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) TrDREB1 มี domain ที่เป็นส่วนอนุรักษ์ 1 แห่ง คือ EREBP/AP2 domain และลำดับของกรดอะมิโนมีความคล้ายคลึงกับ *Arabidopsis thaliana* DREB family และมีการจัดเรียงตัวของโครงสร้างเป็นแบบทุติยภูมิภายใน DNA-binding motif ในข้าวสาลีสายพันธุ์ต่างๆ ยีน *TaDREB1* จะถูกเหนี่ยวนำให้มีการสร้างขึ้นเมื่อมีอุณหภูมิต่ำ เมื่อได้รับความเค็มและความแห้งแล้ง และยีน *Wcs120* ที่อยู่ใน DRE motif ในส่วนของ promoter ของมันเองมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับการแสดงออกของยีน *TaDREB1* ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า TaDREB1 ทำหน้าที่เป็น DRE-binding transcription factor ในข้าวสาลี

4.6 การดัดแปลงพันธุกรรมพืชเพื่อให้ทนต่อความเครียดเนื่องจากปัจจัยแวดล้อมที่ไม่มีชีวิต

ความก้าวหน้าทางเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมทำให้มีงานวิจัยเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งรวมถึงการดัดแปลงพันธุกรรมพืชให้ทนต่อความเครียดเนื่องจากปัจจัยแวดล้อมที่ไม่มีชีวิตด้วย ยกตัวอย่างการดัดแปลงพันธุกรรมในพืชหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวบาร์เล่ย์ และมะเขือเทศ ให้ทนต่อความเครียดเนื่องจากความเค็ม Xu et al. (1996) สร้างข้าวดัดแปลงพันธุกรรมโดยการถ่ายยีน *HVA1* ในข้าวบาร์เล่ย์ซึ่งเป็นยีนที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีการสร้างขึ้นอย่างรวดเร็วในต้นกล้าเมื่อได้รับความเครียดเนื่องจากการเกิดการขาดน้ำ ความเครียดเนื่องจากเกลือและความเครียดเนื่องจากอุณหภูมิยิ่งยวด (Hong et al., 1992) ถ่ายเข้าสู่ข้าว japonica สายพันธุ์ Nipponbare ผลจากการทดลองพบว่าข้าวดัดแปลงพันธุกรรมมีการสะสมของโปรตีน HVA1 ในระดับสูงทั้งในส่วนของใบและรากของต้นข้าว ข้าวดัดแปลงพันธุกรรมรุ่นที่ 2 จะมีความสามารถในการทนต่อความเครียดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญสัมพันธ์กับปริมาณการสะสมโปรตีน HVA1 ภายใต้สภาวะขาดน้ำและความเครียดเนื่องจากความเค็มและรักษาอัตราการเจริญได้สูงกว่าข้าวที่ไม่มีการดัดแปลงพันธุกรรมซึ่งเป็นชุดควบคุมภายใต้สภาวะที่ได้รับความเครียดต่างๆ

Roxas et al. (1997) ได้สร้างต้นยาสูบดัดแปลงพันธุกรรมที่มีการแสดงออกของยีนที่มากเกินไปของสาย cDNA ที่เป็นรหัสสำหรับเอนไซม์ 2 ชนิดประกอบด้วย glutathione S-transferase (GST) และ glutathione peroxidase (GPX) ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าพืชดัดแปลงพันธุกรรมมี GST- และ GPX-specific activities ประมาณ 2 เท่า ซึ่งสูงกว่าพืชสายพันธุ์ดั้งเดิม พืชที่มีการแสดงออกที่มากเกินไปของ GST/GPX จะเจริญเติบโตเร็วกว่าพืชชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญเมื่อมีการให้ความเครียดเนื่องจากความเย็นหรือความเครียดเนื่องจากเกลือ ดังนั้นการแสดงที่มากเกินไปของ GST/GPX สามารถกระตุ้นการเจริญของต้นกล้าได้ภายใต้สภาวะความเครียดเนื่องจากความเย็นและความเครียดเนื่องจากเกลือ

Winicov and Bastola (1999) รายงานถึงการแสดงออกที่มากเกินไปของยีน *Alfin1* ในต้น alfalfa ที่ดัดแปลงพันธุกรรมทำให้มีการสะสมของยีน *MsPRP2* ในส่วนของแคลลัสและรากของพืชและพบว่ายีน *Alfin1* ทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมการถอดรหัสในพืชและมีบทบาทที่สำคัญในการแสดงออกของยีน *MsPRP2* ในต้น alfalfa เนื่องจากพืชดัดแปลงพันธุกรรมมีการแสดงออกของยีน *Alfin1* ที่มากเกินไปทำให้พืชสามารถพัฒนาให้ตนเองทนต่อความเค็มเนื่องจากเกลือ NaCl ได้เมื่อเปรียบเทียบกับพืชดัดแปลงพันธุกรรมก่อนหน้านี้ที่สร้างมาจากการเพาะเลี้ยงเซลล์ การแสดงออกของยีน *Alfin1* เป็นกลไกหลักที่สำคัญในการควบคุมเพื่อให้ต้น alfalfa สามารถทนต่อความเครียดเนื่องจากเกลือ NaCl ได้

Gisbert et al. (2000) สร้างมะเขือเทศดัดแปลงพันธุกรรม (*Lycopersicon esculentum* Mill.) โดยการนำเอายีน *HAL1* จากเซลล์ยีสต์ถ่ายเข้าสู่เซลล์มะเขือเทศ ผลจากการทดลองพบว่า

พืชดัดแปลงพันธุกรรมมีความสามารถในการรักษาความเข้มข้นของ K^+ ภายในเซลล์ได้สูงกว่าพืชชุดควบคุมภายใต้สภาวะความเครียดเนื่องจากเกลือ

Piao et al. (2001) สร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่เป็น *Arabidopsis* โดยการถ่ายยีน *Arabidopsis* ที่มีความเหมือนกับ GSK3/shaggy-like kinase, AtGSK1 ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความเกี่ยวข้องในการตอบสนองต่อเกลือโซเดียมคลอไรด์ โดยถ่ายยีนดังกล่าวเข้าสู่เซลล์ของพืช ผลจากการดัดแปลงพันธุกรรมพืช (*Arabidopsis* plant) พบว่ามีการแสดงออกของยีน *AtGSK1* mRNA ที่มากเกินไปและทำให้พืชทนต่อความเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้ เมื่อวิเคราะห์พืชทั้งหมดหรือทำการวัดการเจริญของรากในจานอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ พืชดัดแปลงพันธุกรรมจะมีการสะสม Na^+ มากกว่าพืชสายพันธุ์ดั้งเดิม 30-50% เมื่อมีการให้ความเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ปริมาณของ Ca^{2+} จะเพิ่มขึ้นเป็น15-30% ในพืชดัดแปลงพันธุกรรมทั้งที่มีการให้ความเครียดเนื่องจากเกลือ การแสดงออกของยีน *AtGSK1* ที่มากเกินไปถูกเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของยีนตอบสนองต่อความเค็มซึ่งประกอบด้วย ยีน *AtCP1, RD29A* และ *CHS1* เมื่อไม่มีการให้ความเครียดเนื่องจากเกลือ ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่า AtGSK1 เกี่ยวข้องในวิถีการส่งถ่ายสัญญาณภายในเซลล์ในระหว่างการตอบสนองต่อความเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ใน *Arabidopsis*

Jeong et al. (2001) สร้างมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมโดยทำให้เกิดการแสดงออกของยีนที่มากเกินปกติของ *Pleurotus sajor-caju GDP* (glyceraldehydes-3-phosphasedehydrogenase) gene พืชสายพันธุ์ดั้งเดิมจะตายภายหลังจากการได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือเป็นเวลานาน 10 วัน แต่พืชดัดแปลงพันธุกรรมสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ จากผลการทดลองพบว่า *P. sajor-caju GDP* gene สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาพืชเศรษฐกิจที่สำคัญให้สามารถทนเค็มได้โดยใช้วิธีการถ่ายยีนและยังพบว่ายีน *P. sajor-caju GDP* อาจจะมีหน้าที่ในการตอบสนองต่อความเครียดอื่นๆ นอกเหนือจากความเครียดเนื่องจากเกลือ

Rohila et al. (2002) ทำการถ่ายยีน *HVA1* จากข้าวบาร์เล่ย์เข้าสู่ข้าวสายพันธุ์ Pusa Basmati 1 พืชดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้มีความสามารถในการทนต่อความเครียดได้ทั้งในระดับเซลล์ และการเจริญภายหลังจากการให้ความเครียดเนื่องจากเกลือและความเครียดเนื่องจากน้ำเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชุดควบคุม ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการสะสมของยีน *HVA1* ที่ใบของข้าวดัดแปลงพันธุกรรมในระดับสูง เป็นกลไกที่ช่วยให้พืชทนต่อความเครียดเนื่องจากการขาดน้ำและความเครียดเนื่องจากเกลือได้สูงขึ้น

Uchida et al. (2002) รายงานว่า H_2O_2 และ NO สามารถเพิ่มขึ้นได้ในต้นกล้าของข้าวเมื่อได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือและความเครียดเนื่องจากความร้อน การทรีตต้นกล้าด้วย H_2O_2 หรือ NO ในระดับต่ำ (< 10 mM) จะช่วยให้เนื้อเยื่อใบพืชสีเขียวมีชีวิตเพิ่มสูงขึ้น ทำให้กระบวนการสังเคราะห์เกิดขึ้นได้ดีภายใต้สภาวะความเครียดเนื่องจากเกลือและความเครียดเนื่องจากความร้อน และยังพบว่าระดับการถอดรหัสของยีนตอบสนองความเครียดที่เป็นรหัส

สำหรับ sucrose-phosphate synthase, Δ^1-pyroline-5-carboxylate synthase และ heat shock protein 26 สูงกว่าในพืชที่ได้รับความเครียดเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชุดควบคุม

Ohta et al. (2002) ตัดต่อพันธุกรรมข้าวสายพันธุ์ Kinuhikari ที่เป็นพันธุ์ไวต่อความเค็มให้มีการแสดงออกของยีน vacuolar-type Na^+/H^+ antiporter gene จากพืช *Atriplex gmelini* (*AgNHX1*) ซึ่งเป็นพืชทนเค็ม ข้าวดัดแปลงพันธุกรรมมีการแสดงออกของยีน *AgNHX1* ที่มากเกินปกติทำให้ข้าวสามารถทนต่อความเครียดเนื่องจากความเค็มจัดได้ภายใต้สภาวะที่มีการให้ให้เกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 33 mM เป็นเวลานาน 3 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับพืชที่ไม่มีการให้ความเครียด ผลการทดลองที่ได้คล้ายคลึงกับการทดลองของ Xue et al. (2004) ซึ่งสร้างข้าวสาลีดัดแปลงพันธุกรรมโดยการถ่ายยีน vacuolar-type Na^+/H^+ antiporter gene จาก *A. thaliana* เข้าสู่เซลล์พืช และยังพบว่าข้าวสาลีดัดแปลงพันธุกรรมมีการเพิ่มผลผลิตทางชีวมวลที่ระยะการเจริญเติบโตและพัฒนาการทางลำต้นและใบและเพิ่มอัตราการงอกภายใต้สภาวะที่ได้รับความเค็ม ยิ่งไปกว่านั้นข้าวสาลีดัดแปลงพันธุกรรมจะให้ผลได้ของเมล็ดสูงซึ่งมีน้ำหนักมากกว่าและมีเมล็ดใหญ่กว่าในแปลงเพาะปลูกในพื้นที่ดินเค็ม ผลการทดลองที่ได้มีความคล้ายคลึงกับผลการทดลองพืช Brassica ดัดแปลงพันธุกรรม ซึ่งมีการแสดงออกของยีน *AtNHX1* หรือ vacuolar-type Na^+/H^+ antiporter gene จาก *A. thaliana* พืชดัดแปลงพันธุกรรม *Brassica napus* สามารถเจริญให้ดอกและผลิตเมล็ดพันธุ์ได้ที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 200 mM NaCl (Zhang et al., 2001)

Narita et al. (2004) แยกยีนที่เป็นรหัสสำหรับ putative methionine systhase ในใบของข้าวบาร์เล่ย์ ให้ชื่อเป็น *HvMS* (*Hordeum vulgare* methionine synthase) ระดับการแสดงออกของยีน *HvMS* จะเพิ่มขึ้นอย่างมากภายใต้สภาวะที่ได้รับความเครียดเนื่องจาก ปัจจัยต่างๆ เช่น เกลือ ความแห้งแล้ง การเกิด osmolarity ที่สูงขึ้นเมื่อใช้สาร PEG และความเย็น เมื่อมีการให้ signal molecule ขนาดเล็ก เช่น ABA และ H_2O_2 และยังพบว่าระดับของโปรตีน HvMS มีการเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในส่วนของใบข้าวบาร์เล่ย์ภายใต้สภาวะที่ได้รับความเครียดเนื่องจากเกลือ ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าโปรตีน HvMS อาจจะทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ methionine และยังทำหน้าที่เป็นตัวพา methyl group ไปกระตุ้น methyl cycle ที่จำเป็นต่อการสังเคราะห์ glycine betaine ในใบของข้าวบาร์เล่ย์ภายใต้สภาวะที่ได้รับความเครียดเนื่องจากเกลืออีกด้วย

Zhao et al. (2006) ศึกษาการแสดงออกของยีน plasma membrane Na+/H+ antiporter *SOD2* จากเซลล์ยีสต์ (*Schizosaccharomyces pombe*) ในข้าวดัดแปลงพันธุกรรมทำให้ข้าวสามารถทนต่อความเครียดเนื่องจากเกลือได้ ข้าวดัดแปลงพันธุกรรมจะมีการสะสม K^+,Ca^{2+}, Mg^{2+} ในปริมาณมากและพบการสะสม Na^+ ในปริมาณน้อยในส่วนของยอดข้าวเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่มีการดัดแปลงพันธุกรรมซึ่งเป็นชุดควบคุม วิธีการวัดจะทำการแยก plasma membrane vesicle จากรากของข้าวดัดแปลงพันธุกรรม *SOD2* พบว่า vesicle มี P-ATPase hydrolytic activity เพิ่มมากขึ้น ยิ่งไปกว่านั้นข้าวดัดแปลงพันธุกรรมยังรักษาระดับของ

การสังเคราะห์แสง (photosynthesis) และความสามารถในการแลกเปลี่ยนโปรตอนของรากพืช (proton exportation capacity) ในขณะที่ ROS generation ลดลง จากการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยาพบว่าข้าวดัดแปลงพันธุกรรมอาจจะถูกนำไปใช้ในกลไกต่างๆ เพื่อเพิ่มความทนเค็มภายใต้สภาวะที่พืชได้รับความเครียดเนื่องจากความเค็ม ผลจากการทดลองพบว่าการแสดงออกของ plasma membrane Na+/H+ antiporter gene ในพืชมีประสิทธิภาพในการลดความเป็นพิษของ Na^+ ได้